Campilobacteriose e principais métodos diagnósticos

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Yaiddy Paola Martinez
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: As autoras
Autoras: Letícia Silva Santos
Fernanda Aparecida Longato dos Santos
Gabriela Ribeiro da Silva
Micaela Guidotti Takeuchi
Simone Somerfeld
Thais Fernanda Martins dos Reis

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C196 Campilobacteriose e principais métodos diagnósticos / Letícia Silva Santos, Fernanda Aparecida Longato dos Santos, Gabriela Ribeiro da Silva, et al. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Outras autoras
Micaela Guidotti Takeuchi
Simone Somerfeld
Thais Fernanda Martins dos Reis

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5983-980-3
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.803222701

1. Bactérias. 2. Campylobacter. 3. Campilobacteriose. 4. Métodos diagnósticos. I. Santos, Letícia Silva. II. Santos, Fernanda Aparecida Longato dos. III. Silva, Gabriela Ribeiro da. IV. Título.

CDD 579.3

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DAS AUTORAS

As autoras desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão; 3. Certificam que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access, desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce,* ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

APRESENTAÇÃO

A campilobacteriose, doença causada pelo agente infeccioso *Campylobacter*, tem elevada incidência mundial e pode ser considerada relevante do ponto de vista socioeconômico, uma vez que se trata de uma doença transmitida por alimentos contaminados, não sendo seguros principalmente para crianças, idosos e pessoas com sistema imunológico comprometido, especialmente de países em desenvolvimento, onde os quadros muitas vezes podem evoluir para óbito.

No Brasil, a ausência de registos pode levar a conclusão errônea de que há poucos casos da doença, tornando o conhecimento a respeito da bactéria, sua patogenia e métodos diagnósticos muito importante para a saúde pública e segurança alimentar tanto para a agroindústria, quanto para a população.

Desta forma, este livro busca expandir o entendimento sobre a doença, alertar sobre a subnotificação e o subdiagnóstico além de apresentar as metodologias de diagnósticos microbiológicos, moleculares e imunológicos disponíveis.

Esperamos que a leitura do texto seja suficientemente clara a fim de sanar as principais demandas de conhecimento a respeito da campilobacteriose e trazendo as devidas respostas aos questionamentos sobre esta doença de importância mundial.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) ocorrem pela ingestão de agentes patogênicos ou toxinas presentes em alimentos devido a problemas higiênico-sanitários na manipulação ou produção e, normalmente, são manifestadas por uma síndrome composta por perda de peso, vômitos e diarreia, com presença ou não de febre (WHO, 2010; BRASIL, 2011). A campilobacteriose é a principal DTA em países da Europa e nos EUA desde 2005 (EFSA, 2021; CDC 2017). No entanto, não existem registros de casos de surtos alimentares relacionados a bactérias do gênero *Campylobacter* no Brasil, devido às dificuldades no diagnóstico e a problemas de subnotificação (CISCO et al., 2017).

O gênero *Campylobacter* pertence à família *Campylobacteraceae*, representada por 36 espécies, porém as espécies associadas com maior frequência como causadoras de infecção em humanos são as catalase-positivas, principalmente a *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* (STERN et al., 2001; DSMZ, 2017). Essa bactéria é um bacilo curvo, fino, espiralado, gram-negativo, não produtor de esporos e microaerófilo. O gênero possui faixa de pH ideal para crescimento entre 6,5 e 7,5 e possui sensibilidade à desidratação e ao sal (WINN et al., 2006; BRASIL, 2011).

Os principais sinais clínicos em humanos acometidos por *Campylobacter* são os mesmos identificados em outras DTAs, que incluem diarréia líquida com ou sem presença de muco ou sangue, dor abdominal, febre e vômitos com duração de cinco a sete dias (BUTZLER, 2004; ZHANG, 2008). Alguns indivíduos podem apresentar quadros graves como septicemia, meningites, abscessos e doenças auto-imunes pós-infecção, como a Síndrome de Guillain-Barré (VUCIC et al., 2009; STRACHAN et al., 2013; SCALLAN et al., 2015).

O frango de corte é o principal reservatório de *Campylobacter* e age como hospedeiro assintomático, alojando e disseminando o patógeno para todo o lote, aumentando o risco de contaminação após processamento na indústria avícola (CARVALHO, LIMA & PEREIRA, 2002). Na União Européia, em 2019, foram notificados 220.682 casos de campilobacteriose em humanos, o que a classificou como a principal zoonose alimentar notificada nestes países, sendo a carne de frango o principal alimento na cadeia de transmissão do patógeno, correspondendo a 41% dos alimentos em geral (EFSA, 2021).

Nos EUA, de acordo com o *Centers for Disease Control and Prevention*, foram diagnosticados 8.547 casos em humanos em 2016, sendo também a principal DTA naquele período (CDC, 2017). No Brasil, os poucos registros identificados da doença em humanos estão relacionados a pesquisas pontuais. Pinheiro (2005) identificou a presença de *Campylobacter* spp. em pacientes com diarreia aguda ou crônica no Brasil e destacou que a incidência nos quadros diarreicos tem variações entre 2,3 a 17%, dependendo da idade e das condições socioeconômicas dos pacientes.

Em um estudo realizado no Egito foram coletadas 435 amostras que incluíam frangos de corte, aves de postura e fezes humanas. Destas, 15,17% foram positivas para a presença de *C. jejuni*, e evidenciaram por meio de investigação filogenética que dois isolados de amostras de frangos de corte positivos para a presença de *C. jejuni* possuíam alta homologia com outros isolados de fezes humanas, demonstrando o potencial risco de transmissão e a necessidade de melhorias sanitárias a fim de controlar este patógeno (GHONEIM et al., 2021).

Apesar do avanço no controle de campilobacteriose por meio da inclusão de normativas e legislações, é essencial ressaltar que métodos de isolamento convencional não são capazes de identificar a forma viável não cultivável (VNC), biofilme e planctônica no alimento. Isso evidencia a necessidade deste livro que possui o objetivo de ampliar o entendimento sobre a *Campylobacter* e apresentar as metodologias de diagnósticos microbiológicos e moleculares disponíveis atualmente, a importância do diagnóstico desse microrganismo para as agroindústrias e para a saúde pública e as boas práticas alimentares de modo a evitar a doença e contaminações cruzadas de alimentos (PARK, 2002; KEUM-IL *et al*., 2007).

Em relação aos estudos sobre contaminação em amostras de frango no país, observa-se variação nas porcentagens de contaminação, alterando com a origem do produto. Cisco et al. (2017) verificaram em três abatedouros de frangos de corte no Rio Grande do Sul, uma contaminação de 63,8% em carcaças de frango congeladas e resfriadas prontas para consumo.

É possível observar ainda a presença de *Campylobacter* em aves silvestres, representando possível perigo em condições inadequadas em

que há a presença de animais silvestres próximo a aviários de frango de corte. No trabalho de Dias et al. (2019) foi analisada a presença de *Campylobacter* spp. em aves silvestres capturadas próximo a um aviário no estado do Rio Grande do Sul. Os autores obtiveram positividade em duas espécies de aves silvestres bem como nos aviários próximos, no entanto não foi comprovada a contaminação mútua.

Segundo dados de 2020 e valores preliminares de 2021 fornecidos pela Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2021), o Brasil se destaca como o maior exportador e o terceiro maior produtor mundial de carne de frango. Em 2020, o país produziu 13.845 toneladas de carne de frango, sendo 69% desse valor destinado para o consumo interno e 31% para exportação (ABPA, 2021). Perante a posição de destaque da avicultura brasileira, há necessidade de maiores cuidados para garantia da segurança alimentar dos consumidores de carne de frango, visto que representa o principal disseminador da campilobacteriose (BRASIL, 2011).

Este livro foi escrito por meio de extensa pesquisa bibliográfica, visando expandir o conhecimento sobre a campilobacteriose, alertar o subdiagnóstico desta DTA no Brasil e evidenciar os métodos diagnósticos disponíveis atualmente.

DESENVOLVIMENTO

Este trabalho configura-se como uma revisão de literatura em que se ressalta a pesquisa bibliográfica, que tem o princípio qualitativo de fornecer uma visão geral do objeto estudado, por meio de pesquisa focalizada e aprofundada sobre o tema campilobacteriose (SOUSA, OLIVEIRA & ALVES, 2021).

A abordagem utilizada foi a literatura seletiva, devido a necessidade de delimitação e atualização de um vasto conteúdo sobre o tema de acordo com o objetivo geral e específicos do presente estudo, de forma a elucidar o assunto a partir de referências teóricas publicadas (BENTO, 2012). A pesquisa qualitativa busca facilitar a descrição da complexidade, hipóteses de temas, compreender e analisar a interação entre variáveis (LIMA & MIOTO, 2007; SOUSA, OLIVEIRA & ALVES, 2021).

O levantamento bibliográfico foi realizado a partir de periódicos nacionais e internacionais, através de livros e dos bancos de dados Google Acadêmico, BMC, Scielo, Web of Science e PubMed, entre janeiro e junho de 2021, com as palavras chave: *Campylobacter*, campilobacteriose, diagnóstico, biofilme e DTAs em português e inglês. O foco foram artigos publicados entre 2000 a 2021, dentre os quais foram selecionados os mais relevantes e recentes para a revisão, além das literaturas de base que abrangem a temática.

Campylobacter

O gênero *Campylobacter* surgiu após dois cientistas, Sebald e Véron aplicarem o teste de metabolismo fermentativo de Hugh e Leifson e observar diferença nas bases de DNA de bactérias, antes classificadas como bactérias do gênero *Vibrio spp.* (ON, 2001).

As bactérias do gênero *Campylobacter* são gram-negativas cuja principal característica é o crescimento por microaerofilia, requerendo baixas quantidades de oxigênio para sua multiplicação. Concentrações de oxigênio inferiores a 3% e maiores que 15% inibem seu crescimento, sendo ideal a concentração de 5% (BRASIL, 2011).

O nome do gênero deriva do grego e significa Apresentam formas variadas sendo curvada em forma de “s”, também chamada “asa de gaivota”, ou ainda como forma de espiral, tendo um comprimento de aproximadamente 0,2 a 0,5 µm de largura e 0,5 a 5 µm de comprimento. Possuem mobilidade conferida por um único flagelo que apresenta de duas a três vezes o tamanho da célula, movimentando-se em forma característica de saca-rolhas. (ON, 2001) (Figura 1).
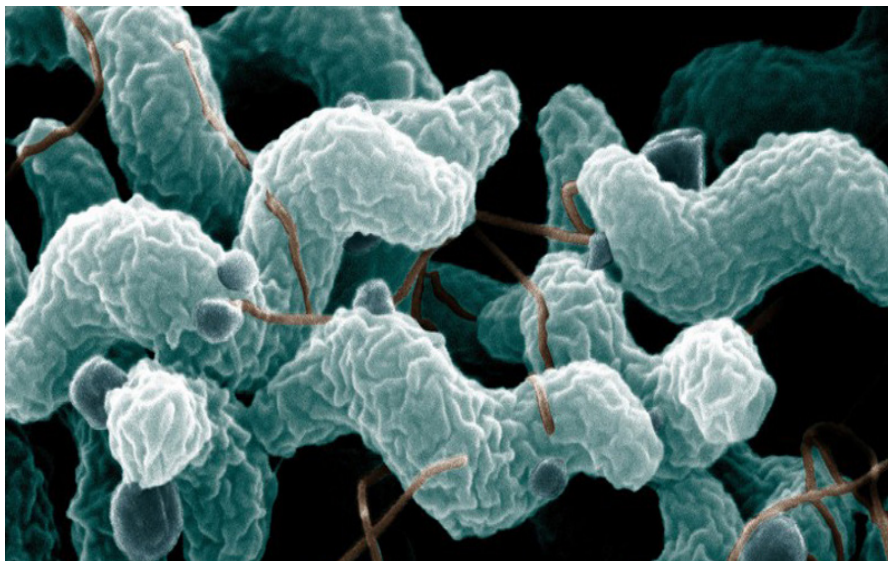
Figura 1: *Campylobacter sp.*

Fonte: De Wood, apud Orihuel 2015

A família *Campylobacteraceae* possui 32 espécies e 13 subespécies do gênero *Campylobacter*:

- *Campylobacter avium*
- *Campylobacter butzleri*
- *Campylobacter canadensis*
- *Campylobacter cinaedi*
- *Campylobacter coli*
- *Campylobacter concisus*
- *Campylobacter cryaerophilus*
- *Campylobacter cuniculorum*
- *Campylobacter curvus*
- *Campylobacter fennelliae*
- *Campylobacter fetus*
    - *Campylobacter fetus subsp. fetus*
    - *Campylobacter fetus subsp. venerealis*
- *Campylobacter gracilis*
- *Campylobacter helveticus*
- *Campylobacter hominis*
- *Campylobacter hyoilei*
- *Campylobacter hyointestinalis*
    - *Campylobacter hyointestinalis subsp. hyointestinalis*
    - *Campylobacter hyointestinalis subsp. lawsonii*
- *Campylobacter insulaenigrae*
- *Campylobacter jejuni*
    - *Campylobacter jejuni subsp. doylei*
    - *Campylobacter jejuni subsp. jejuni*

- *Campylobacter lanienae*
- *Campylobacter lari*
  - *Campylobacter lari subsp. concheus*
  - *Campylobacter lari subsp. lariCampylobacter mucosalis*
- *Campylobacter mustelae*
- *Campylobacter nitrofigilis*
- *Campylobacter peloridis*
- *Campylobacter pylori*
  - *Campylobacter pylori subsp. mustelae*
  - *Campylobacter pylori subsp. pylori*
- *Campylobacter rectus*
- *Campylobacter showae*
- *Campylobactersputorum*
  - *Campylobactersputorum subsp. bubulus*
  - *Campylobacter sputorum subsp. mucosalis*
  - *Campylobacter sputorum subsp. sputorum*
- *Campylobacter subantarcticus*
- *Campylobacter upsaliensis*
- *Campylobacter ureolyticus*
- *Campylobacter volucris*

As espécies *C. jejuni, C. coli* e *C. lari* são classificadas como termofílicas, pois crescem em uma faixa estreita de temperatura, variando entre 30ºC e 47ºC, com temperatura ótima de crescimento de 42ºC (PARK, 2002). As condições mínima, máxima e ótima de crescimento das bactérias do gênero *Campylobacter* encontram-se disponíveis na tabela 1.

Parâmetros	Mínimo	Ótimo	Máximo
Tensão de O_2	3%	5%	15%
Temperatura	30ºC	42ºC	47ºC
pH	5,5	6,5-7,5	8,0
NaCl	-	0,5%	2,0%
CO_2	-	10%	-

Tabela 1. Características de crescimento de *Campylobacter* sp.

A adesão da bactéria às células do trato gastrointestinal do hospedeiro se dá pela presença de adesinas localizadas nos flagelos e em outros componentes da superfície celular. Após a adesão, a bactéria invade as células por endocitose promovendo perda das microvilosidades e apoptose prematura provocada pelas toxinas produzidas por *Campylobacter*. Dentre as toxinas produzidas estão as enterotoxinas que possuem a capacidade de se ligar a um receptor celular, promovendo desregulação da Adenil ciclase e elevando, assim os níveis de monofosfato cíclico de adenosina (AMP cíclico) que promove o aumento da secreção celular, potencializando o efeito inflamatório do trato gastrointestinal e ocasionando os sintomas da campilobacteriose (BRASIL, 2011).

Campilobacteriose

Aves domésticas como frangos, perus e patos são frequentemente infectados por bactérias do gênero *Campylobacter*, principalmente pelas espécies *C. jejuni* e *C. coli.* Estas bactérias são hospedeiros do trato gastrointestinal de aves e produzem pouca ou nenhuma doença clínica nas aves (ZHANG & SAHIN, 2020).

A primeira associação de bacilos Gram negativos curvos à diarreia humana foi sugerida por Levy em 1946, por meio de um estudo epidemiológico realizado na penitenciária de Illinois. Levy observou a presença de uma bactéria semelhante ao *Vibrio* em 20% das amostras. Posteriormente, em 1963, Sebald e Veron propuseram a criação do gênero *Campylobacter* para inclusão dessas bactérias devido a diferença na temperatura, condições de crescimento e composição de nucleotídeos do DNA (LEVY, 1946; SEBALD & VERON, 1963; FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016).

A campilobacteriose é a zoonose alimentar bacteriana de maior ocorrência na Europa, configurando-se como um problema de saúde pública (EFSA, 2021). Segundo a EFSA (2021), *Campylobacter* é o principal patógeno relacionado às gastroenterites alimentares nos países da União Europeia desde 2005, frequentemente excedendo os números de casos de *Salmonella* e *Shigella.*

De acordo com dados do EFSA (2015) dentre as cepas mais comumente envolvidas em surtos, destaca-se a presença de *Campylobacter coli* e *C. jejuni*. Em países subdesenvolvidos ainda se observa a dificuldade na detecção e identificação do patógeno responsável pelos surtos. A espécie termotolerante que apresenta maior patogenicidade em infecções humanas e associada à maioria dos casos de síndrome de Guillain-Barré (SGB) é a *Campylobacter jejuni* e posteriormente, *C. coli* e *C. lari* por serem fenotipicamente difíceis de distinguir. A *C. jejuni* é considerada dentre o gênero a espécie mais virulenta devido a resistência que possui à fagocitose (BRASIL, 2011).

Apesar de a patogênese completa ser pouco elucidada, o gênero em estudo possui alguns mecanismos patogênicos conhecidos, como complexo flagelar, quimiotaxia, aderência, invasão celular e produção de toxinas (PERES, 2020). A *Campylobacter* inicialmente coloniza o intestino

delgado e depois se move para o cólon, que é o órgão alvo da doença. A bactéria possui várias adesinas diferentes que contribuem para sua adesão bem-sucedida às células epiteliais do intestino, porém a importância de cada adesina ainda é pouco conhecida. As interações de *Campylobacter* com células epiteliais, dendríticas e macrófagos podem desencadear a ativação de fatores pró-inflamatórios com liberação de quimiocinas e citocinas que, provavelmente, contribuem para ocorrência da diarreia e eliminação da infecção (YOUNG et al, 2007).

A síndrome de Guillain-Barré (SGB) é uma doença autoimune que atinge o sistema nervoso periférico causando paralisia flácida aguda. Esta doença está associada a diversas doenças infecciosas, no entanto as doeças entéricas causadas pela *Campylobacter* parecem ser o evento antecedente mais comum associado a esta síndrome. Vários casos de SGB associados à infecção por *Campylobacter* já foram relatados no mundo (VAN KONINGSVELD et al, 2001; LASTOVICA et al, 1997; HO et al, 1995).

Os principais fatores causadores de campilobacteriose em humanos são associados a produtos de origem animal sem processamento térmico, consumo de carne de frango contaminada e crua ou malcozida, contato com animais doentes e contaminação cruzada por práticas incorretas na manipulação de alimentos (BEHRENS et al., 2010; SCALLAN et al., 2015).

O período de incubação da *Campylobacter* no organismo humano varia de dois a dez dias e os sinais clínicos comuns são diarreia líquida com ou sem presença de muco ou sangue, dor abdominal, febre e vômitos com duração de cinco a sete dias (BUTZLER, 2004; ZHANG, 2008). Em quadros graves principalmente em pacientes imunossuprimidos pode ocorrer septicemia, meningites, abcessos e doenças auto-imunes pós-infecção (VUCIC et al., 2009; STRACHAN et al., 2013; SCALLAN et al., 2015). Ainda podem ser levados em consideração fatores como estado imunológico e idade do paciente, assim como o potencial virulento do patógeno para determinar casos mais graves ou mais brandos da doença (NIELSEN et al., 2013).

Casos de campilobacteriose em pacientes portadores do vírus HIV já foram relatados em todo o mundo e a incidência de manifestações clínicas é maior que em pacientes HIV negativos, sendo maior também em países

em desenvolvimento (QUINN, 1997). Estas observações reforçam a importância dos cuidados necessários para controlar e evitar esta doença em países em desenvolvimento.

A figura 2 ilustra os principais fatores causadores da campilobacteriose bem como os principais sintomas causados pela infecção pela bactéria.
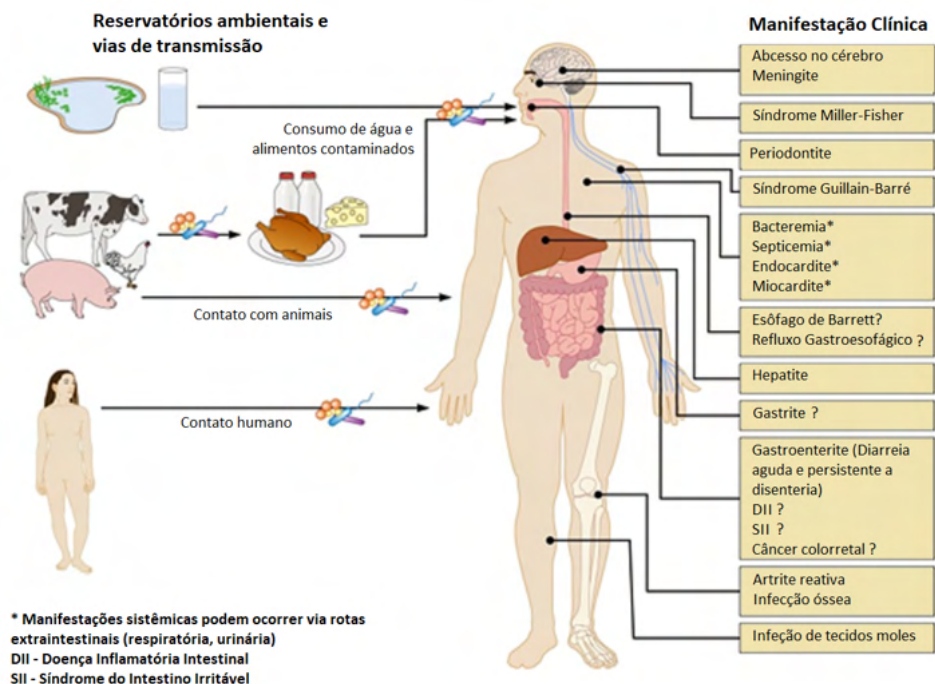
Figura 2: Formas de transmissão e sintomatologia de campilobacteriose. Adaptado de Kaakoush et al. (2015).

Curiosamente, estudos epidemiológicos apontam a existência de uma diferença socioeconômica na manifestação da doença, sendo, em países desenvolvidos, uma disenteria autolimitada e, em países em desenvolvimento, uma diarreia aquosa, sendo mais frequente em crianças (YOUNG et al, 2007). A patogênese é muito influenciada pela virulência da cepa, bem como pela susceptibilidade do hospedeiro, tendo maior gravidade em pacientes imunossuprimidos ou desnutridos (ZILBAUER, 2008).

De acordo com Centers for Disease Control and Prevention (2017),

a dose infectante de *Campylobacter* em alimentos é baixa, menos de 500 unidades formadoras de colônias (UFCs) podem causar a doença em humanos.

Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (2020), ocorreram 626 surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Brasil entre os anos de 2016 e 2019, acometendo 37.247 pessoas e não foi diagnosticado nenhum caso de campilobacteriose, sugerindo possível subdiagnóstico e subnotificação da doença no país.

A enterite por *Campylobacter* é autolimitada e a terapia com antibióticos geralmente não é recomendada. No entanto, os agentes antimicrobianos são recomendados para infecções extra-intestinais e para o tratamento de pessoas imunocomprometidas.

Eritromicina e ciprofloxacina são drogas de escolha, porém a taxa de resistência a esses medicamentos está aumentando tanto nos países em desenvolvimento como nos países desenvolvidos, embora a incidência seja maior em países em desenvolvimento. Fatores como a automedicação e o uso desses medicamentos para o tratamento de outras doenças são as causas mais comuns de resistência nos países em desenvolvimento. No caso de países desenvolvidos, a resistência se da devido ao fato do uso desses medicamentos em animais de produção e uso por pessoas que viajam a países em desenvolvimento (ENGBERG et al., 2001).

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA EM CONDIÇÕES ADVERSAS

Primeiramente, é importante elucidar as particularidades das diferentes formas que a *Campylobacter spp*. pode ser encontrada. Uma delas é a forma espiralada, que representa a fase de crescimento exponencial da bactéria, enquanto a forma cocóide indica a fase estacionária. A transição para a segunda fase é decorrente de situações estressantes para a bactéria, nas quais adaptações são necessárias para garantir sua sobrevivência no meio em que se encontra, tendo como exemplo alterações na temperatura, falta de alimento, estresse oxidativo e possível estresse osmótico (IKEDA, 2012).

Campylobacter é um bacilo curvo capaz de realizar retração citoplasmática e adquirir a forma resistente de cocos gram negativos, conhecida como "forma viável não cultivável" (VNC) em condições adversas, como envelhecimento da cultura, variação de pH, estresse térmico, oxidativo e nutricional, permitindo a sobrevivência do patógeno. Um exemplo de situação indutora da aquisição desse estado é a refrigeração ou congelamento da carne de frango destinada ao consumo (CHAISOWWONG et al., 2012; MAGAJNA & SCHRAFT, 2015).

Este gênero torna-se não cultivável quando assume o estado VNC, impedindo a detecção da bactéria em alimentos e isolamento convencional, porém o patógeno permanece infectante devido à inativação parcial que ocorre, mantendo genes de virulência como *flaA, flaB, cadF, ciaB, cdtA, cdtB* e *cdtC* ativos (ALMOFTI et al., 2011; SVENSSON et al., 2014; PERES, 2020).

A redução da atividade metabólica da forma cocóide de *Campylobacter* pode ocasionar a elevação de resistência antimicrobiana e, quando em condições ideais, retoma a forma de vida livre (planctônica) de bacilos curvos (EMBRAPA, 2012).

As condições ótimas de crescimento são em temperatura de 42ºC, sob microaerofilia (Figura 3). Em aerofilia, sua estabilidade é melhor alcançada na temperatura de 4 ºC, onde ocorre a sua alteração de forma espiral para forma cocóide e se mantém na forma VNC. Ainda, se mantida em microaerofilia após entrar na forma VNC, as estirpes de *Campylobacter* são capazes de retornar a forma viável e se multiplicar (LEE et al., 2005).

Figura 3. Jarra de anaerobiose utilizada para permitir o desenvolvimento e cultivo de microrganismos anaeróbios em atmosfera de microaerofilia.

Fonte: Própria autoria

Jang et al. (2007) estudou a adesão de *Campylobacter* na pele de frangos sob diferentes condições e temperaturas. Observou que quando em forma VNC, em temperaturas de 4, 25 e 37ºC e condições anaeróbias, *C. jejuni* foi capaz de aderir a peles de frangos, o que ressalta a grande capacidade multiplicativa desta cepa no trato gastrintestinal de humanos, na qual ocorre microaerofilia, possibilitando a alteração da forma não cultivável para a forma viável, elucidando a importância de melhores programas de prevenção à *Campylobacter spp*. em aves a fim de evitar surtos de DTA consequentes.

O verão concentra grande parte das ocorrências de campilobacteriose, com a faixa térmica ideal para seu crescimento, porém em baixas temperaturas nas quais ocorre um estresse térmico em que são liberados radicais superóxidos, as bactérias são capazes de expressar a enzima SOD (superóxido desmutase) que permite a sua sobrevivência (SCALLAN et al., 2011). Seu mecanismo de ação envolve basicamente a lise do superóxido liberado, convertendo em peróxido de hidrogênio e dioxigênio, impedindo consequentemente o estresse oxidativo (STINTZI, 2003).

Outro mecanismo de resistência para condições adversas pode ser a manutenção das bactérias em sua forma séssil (biofilmes). Os biofilmes

são formados por comunidades bacterianas, que ficam protegidas por uma matriz extracelular composta por proteínas, polissacarídeos, DNA entre outros, e oferecem proteção às bactérias além de manter os nutrientes e evitar a desidratação (DRODZ, 2014).

Os biofilmes representam grande impacto na indústria de alimentos, visto que, uma vez que as bactérias adquirem essa forma de vida, a sanitização dos equipamentos e superfícies, como o aço inoxidável, poliuretano e polipropileno, é prejudicada. Além disso, as bactérias podem formar biofilmes também nos alimentos e em diversas áreas das indústrias de alimentos, como paredes e pisos, o que facilita a recontaminação pelo patógeno (CAMPOS & BOTUCATU, 2014; LEWIS, 2001). Diversos mecanismos diferentes estão envolvidos na formação e manutenção do biofilme e serão aprofundados no próximo tópico.

BIOFILMES

Um dos maiores desafios da indústria alimentícia diz repeito à segurança dos produtos que serão comercializados. Isso porque podem ser observadas falhas, principalmente durante os processos de limpeza, que vão favorecer a permanência daqueles micro-organismos que tem grande capacidade de formação de biofilmes. Dentre os micro-organismos transmitidos por alimentos que tem grande capacidade de formação de biofilmes, as bactérias do gênero *Campylobacter* são de extrema relevância, principalmente por serem comumente veiculados por subprodutos avícolas e representarem grande risco de infecções para seres humanos (POMETTO, 2015).

Estudos relatam que um dos maiores responsáveis por riscos de contaminação cruzada no processamento de alimentos é a formação de biofilme em superfícies, como por exemplo, em tábuas de corte e facas, ou seja, a partir do momento em que utensílios são contaminados por micro-organismos presentes nos alimentos, estes podem vir a formar biofilmes em suas superfícies, e caso não sejam adequadamente higienizados, podem se tornar fonte de contaminação para outros alimentos que podem chegar contaminados à mesa do consumidor (NGUYEN et al., 2012; REUTER et al., 2010).

Micro-organismos como as bactérias do gênero *Campylobacter*, desde que presentes no ambiente das indústrias de alimentos, principalmente de subprodutos avícolas tem a forte tendência à formação de biofilmes (Steenackers et. al, 2012; Vivian, 2014) e este processo é favorecido especialmente devido ao fato de que nos frigoríficos, o resíduo produzido pelo abate (especialmente pelo abate de frangos) é rico em lipídios, proteínas e pode se depositar em diversas superfícies. A partir da presença de "chicken juice" ("suco de frango"), os biofilmes formados são considerados fortemente aderentes, o que consequentemente torna-se uma forma de persistência dos micro-organismos nos abatedouros (REUTER et al., 2010; BROWN et al., 2015; MELO et al., 2017).

Os biofilmes podem ser considerados como estruturas formadas a partir de um processo no qual ocorre a adesão de células bacterianas a superfícies bióticas ou abióticas. Essas células bacterianas agrupadas formam comunidades envoltas por uma matriz polimérica extracelular composta especialmente por exopolissacarídeos (EPS) produzida pelos mesmos, além de proteínas e ácidos nucleicos, a qual confere proteção contra agentes estressores (como agentes biocidas) a esta nova estrutura, além de conferir o acúmulo de nutrientes e a prevenção contra a desidratação (AZEVEDO; CERCA, 2012; FENG et al., 2017; GIAOURIS; NESSE, 2015; LIN et al., 2017).

Outro ponto importante em relação aos micro-organismos que formam um biofilme é que este pode ser formado apenas por uma espécie de bactéria ou por mais espécies associadas (multi-espécies) (RICE; WUERTZ; KJELLEBERG, 2016). Aqueles que se encontram compostos por mais de uma espécie, geralmente são mais estáveis do que biofilomes monoespécies (STEWART; FRANKLIN, 2008). Além disso, bactérias aeróbias tem a capacidade de auxiliar na permanência de *Campylobacter* em estruturas de biofilmes, pois causam a diminuição da taxa de oxigênio na matriz polimérica.

A permanência de bactérias do gênero *Campylobacter* na cadeia produtiva de frangos (especialmente de corte) pode ser considerada um problema de saúde pública de grande relevância, pois gera grandes gastos com tratamentos com antibióticos e hospitalizações decorrentes das sequelas pós-campilobacteriose (BATZ; HOFFMANN; MORRIS, 2012; GIBNEY et al., 2014; MANGEN et al., 2015).

Assim, torna-se de extrema importância que boas práticas na fabricação (BPF) em indústrias de alimentos sejam adotadas e cumpridas com rigor. As BPF consistem em um conjunto de normas que tem por objetivo assegurar, associados a outros programas, a qualidade nos processos envolvidos na produção de alimentos. São bastante reconhecidos e eficientes para obter-se um produto final seguro (GOMES, 2006).

O processo de formação dos biofilmes se dá a partir de cinco etapas. São elas: Fase livre, Fixação à superfície, Micro-colônia, Macro-colônia e Dispersão (ROSSI et al., 2016).
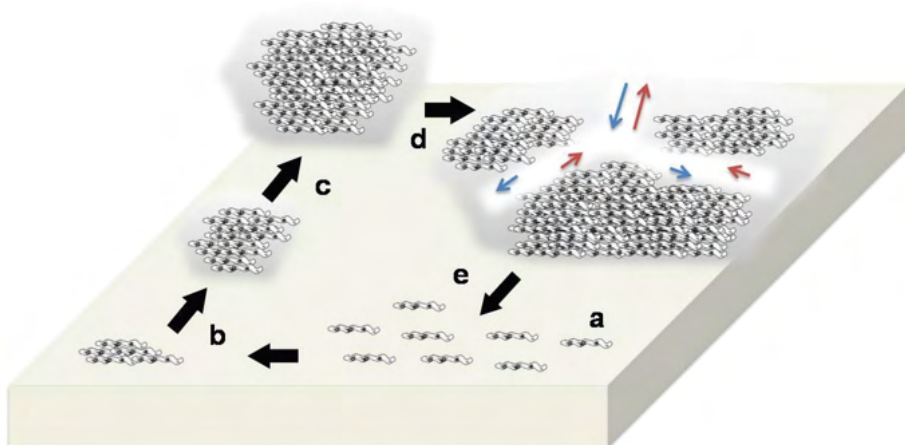
Figura 4. Etapas do ciclo de formação de biofilmes de bactérias do gênero *Campylobacter*: (a) fase livre, (b) fase de adesão à superfície, (c) formação de microcolônias (d) formação de macrocolônias e (e) dispersão. As setas indicam o caminho percorrido pelos nutrientes (azul) e excretas (vermelho) dentro dos túbulos formados no biofilme maduro.

Fonte: ROSSI, 2016

Na primeira fase (fase livre) através da motilidade oferecida pelo flagelo do micro-organismo, ocorre uma fixação reversível do mesmo em superfícies. Esta fixação é de baixa intensidade e é marcada por interações eletrostáticas, hidrofóbicas e força de van der Walls, o que viabiliza a movimentação total da célula bacteriana. No entanto, além de permitir sua movimentação, também é uma fase onde os microorganismos podem facilmente ser removidos das superfícies a partir de processos ideais de limpeza (MOE et al, 2010).

A segunda fase conhecida como fase de fixação irreversível à superfícies, é marcada pelo aumento da ligação das células bacterianas com a superfície, e isso se dá devido ao aumento da produção contínua de exopolímeros, adesinas e DNA (DNA extracelular com função estrutural). Além disso, ocorre o envolvimento de forças dipolo-dipolo, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, ligações iônicas e covalentes. Portanto, nesta etapa, a remoção das células bacterianas encontra-se mais dificultada, necessitando de força mecânica ou tratamento químico. A terceira etapa é marcada pela formação de micro-colônias, e nesta, as células bacterianas encontram-se imóveis. Além disso, ocorrerá também a ativação do mecanismo de quorum-sensing (MOE et al., 2010).

A quarta etapa é marcada pela formação de macro-colônias, onde se observa uma dispersão de exopolímeros mais lenta que o metabolismo das células bacterianas, assim, os gradientes químicos serão responsáveis por criar micro-nichos, no interior dos quais, torna-se possível observar locais onde há morte bacteriana e onde as formas livres do micro-organismo tornam-se móveis (CAPPITELLI et al., 2014).

No quinto estágio há a dispersão das formas livres das células bacterianas possibilitando assim a formação de novos biofilmes (CAPPITELLI et al., 2014).

No que diz respeito à formação de biofilmes, pode-se dizer que existem mecanismos intrínsecos e extrínsecos envolvidos neste processo (Baugh, 2013), assim, embora os estudos genéticos sobre os mecanismos responsáveis pelos processos de produção de biofilmes ainda não consigam elucidar muitas questões (TEH; LEE; DYKES, 2017), atualmente já se sabe que muitos genes quando codificados, se tornam os responsáveis por várias etapas deste processo por bactérias do gênero *Campylobacter* (MELO et al., 2017).

A saber, por exemplo, aqueles que atuam para a motilidade (flaA, flaB, etc.), resposta a agentes estressores (spoT, csrA, ahpC, cosR e cprS), modificações na superfície bacteriana (peb4, waaF, pgp1) e detecção de quorum sensing (luxS) (GARCÍA-SANCHEZ et al., 2019; WAGLE et al., 2019).

O flagelo único ou em ambos os polos da célula bacteriana de *Campylobacter jejuni*, é composto por duas proteínas: a flagelina

maior FlaA, e a flagelina menor FlaB, codificadas pelos genes flaAB, respectivamente. Não atua apenas na motilidade celular, mas também na secreção de proteínas de virulência e mediação da formação das micro-colônias do biofilme (GUERRY, 2007; BARREROTOBON; HENDRIXSON, 2014). De acordo com O'toole; Kolter (1998), o flagelo facilita a adesão das células bacterianas às superfícies através de interações físico-químicas, superando as forças repulsivas associadas à superfícies. Embora esses genes sejam necessários para a formação do biofilme, a ausência dos mesmos não impede que a célula bacteriana adquira a forma séssil, no entanto, dará origem a biofilmes mais fracos, ou seja, a expressão ocasiona a fixação, estruturação e orientação ao biofilme pré-existente (SVENSSON et al., 2014; KIM et al., 2015).

O processo de comunicação entre bactérias a partir do momento em que estas atingem uma determinada densidade populacional (a partir de 10^6 e 10^7 UFC.mL^{-1}) é conhecido como quorum sensing. Neste caso, as bactérias pré-existentes liberam moléculas sinalizadoras, também conhecidas como auto-indutores (AI), que ao serem reconhecidas pelas proteínas receptoras das bactérias presentes no ambiente, desencadeiam a expressão de genes alvo (como por exemplo, dos genes responsáveis pela formação de biofilmes) (PLUMMER, 2012).

A interação que ocorre entre as células bacterianas de acordo com alguns estudos, pode estar relacionada ao processo de adesão inicial destas células, além de uma possível resistência do biofilme contra tratamentos com agentes químicos, estrutura e crescimento do biofilme e dispersão celular (MOONS et al., 2006; VAN DER VEEN; ABEE, 2011).

No caso de *Campylobacter jejuni*, as bactérias produzem AI-1(autoindutor acil-hemoserina), que quando em presença de determinada concentração intracelular, se liga a um ativador de transcrição celular (luxS) que tem por objetivo codificar luciferase, caracterizada como uma enzima metabólica, responsável pela reciclagem de S-adenosilmetionina, a qual é de extrema relevância para realização de reações biossintéticas (PARVEEN; CORNELL, 2011).

A partir da produção de AI-2 pelo gene luxS (o que ocorre quando as concentrações se elevam a partir do crescimento bacteriano), as moléculas AI – 2 reconhecem a população em biofilme. É importante ressaltar que

a produção de AI-2 depende de nutrientes encontrados em fontes de alimentos, como por exemplo, “chicken juice” (PLUMMER, 2012).

Em resposta a situações de estresse térmico, ou seja, com variações na temperatura, as bactérias sintetizam um grupo de proteínas conservadas (BEALES, 2006). Assim sendo, quando há a expressão do gene dnaJ, a cepa codifica uma proteína que permite o crescimento da célula bacteriana em temperaturas maiores que 40ºC (KONKEL et al., 1998).

Já para conseguir sobreviver a situações de estresse devido à baixas temperaturas, a *Campylobacter jejuni* pode expressar proteínas SOD (superóxido desmutase), sendo já descritas três tipos de enzimas SOD: sodB (cofatores com ferro), sodA (manganês) e sodC (cobre e zinco). Alguns dos tipos de enzimas que já foram descritos são responsáveis por atuar convertendo o superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o qual se torna uma forma menos tóxica de oxigênio. Enzimas específicas são responsáveis por transformar o H_2O_2 em água e oxigênio, em especial a catalase então codificada pelo gene katA e a alquil hidroperóxido redutase codificada por sua vez pelo gene ahpC (ATACK; KELLY, 2009; STINTZI; WHITWORTH, 2003; KIM et al., 2015).

Geralmente, o ambiente em que se encontra um biofilme é rico em DNA, isso porque estas moléculas são oriundas da lise de outros organismos que sofreram lise celular, morte ou até mesmo devido à secreção de bactérias (NIELSEN et al., 2007). Este tipo de DNA pode ser encontrado nos mais variados biofilmes bacterianos, sendo conhecido como DNA extracelular (eDNA) (INDIKOVA et al., 2015), e desempenha uma importante função na fixação, crescimento e transferência horizontal de genes, nutrição de células bacterianas podendo vir a se tornar até mesmo parte do genoma de outras bactérias (FENG et al., 2017). Feng e colaboradores (2017), ainda citam que foi identificada a presença de eDNA em biofilmes em quantidades superiores a outros componentes (proteínas e polissacarídeos por exemplo).

No que diz respeito à formação de biofilmes, alguns fatores ambientais podem interferir positiva ou negativamente para sua formação. A saber, disponibilidade de nutrientes (que será determinante para o modo de crescimento e produção de LPS na matriz), concentração de oxigênio (a presença de oxigênio pode favorecer inicialmente a formação

de biofilmes) (STETSENKO et al, 2019), pressão osmótica (quando há algum tipo de estresse osmótico, pode haver a inibição da formação de biofilmes) superfície para adesão (quanto mais hidrofóbicas forem, melhor será a taxa de adesão), temperatura, pH e até mesmo a presença de agentes antimicrobianos (GUINEY, 1997; REESER et al., 2007; DONLAN; COSTERTON, 2002).

Diante da importância da formação de biofilmes de bactérias do gênero *Campylobacter*, torna-se imprescindível a adoção de medidas de prevenção e eliminação dos mesmos, o que ocorre a partir de métodos físicos, químicos e biológicos, que, quando combinados, apresentam melhores resultados (MALAEB et al., 2013). Deve-se levar em consideração o tipo de material e a disposição de equipamentos na planta industrial, para que seja possível evitar que matéria orgânica se acumule em áreas menos acessíveis à limpeza, favorecendo assim a adesão bacteriana e a formação de biofilmes (CHMIELEWSKI; FRANK, 2006).

Considerada uma medida essencial de prevenção, controle e eliminação de biofilmes, a remoção mecânica de matéria orgânica possibilita a eliminação da matriz e exposição de camadas mais profundas dos biofilmes acessando assim as células bacterianas a partir do atrito (MAUKONEN et al., 2003). Assim, é necessário que seja realizada com cautela em relação a equipamentos abrasivos, pois os mesmos podem contribuir negativamente com a danificação das superfícies favorecendo a formação de biofilme.

A associação de lavagem diária com desinfetantes permitidos pelos órgãos competentes também é bastante recomendada, e geralmente produtos tensoativos ou alcalinos são os mais indicados, objetivando a dissolução de resíduos alimentares, emulsão de gorduras e desnaturação de proteínas (MAUKONEN et al., 2003).

Para a realização da desinfecção (método que objetiva a diminuição da carga de microorganismos das superfícies após os processos de limpeza mecânica), os produtos utilizados devem ser seguros para aqueles responsáveis por manipulá-los além de terem sua eficácia comprovada (SREY et al., 2013).

Assim, na indústria alimentícia, as principais classes de sanitizantes mais utilizadas são as de liberadores de cloro ativo, compostos quaternários

de amônio (CQA), os iodóforos e os peróxidos (BRASIL, 2007). No entanto, por não destruírem as estruturas da matriz e consequentemente causarem o ressurgimento dos biofilmes, os compostos químicos acabam por ter ação limitada (OHSUMI et al., 2015). Assim, diante da necessidade de medidas mais efetivas, vários estudos vêm demonstrando outras abordagens no controle e eliminação de biofilmes como, por exemplo, o uso de bacteriófagos, nanopartículas (que tem por objetivo a destruição da biomassa bacteriana), enzimas degradadoras (que objetivam a destruição da matriz), uso de quelantes de ferro (que agem bloqueando a adesão de células bacterianas) (SRINGAN et al., 2011; MATYAR et al., 2014; BROWN et al., 2015; KIM et al., 2017; OH et al., 2018).

Em se tratando de biofilmes de *Campylobacter jejuni*, de acordo com estudos recentes, é importante considerar-se também que alguns desinfetantes ainda usados na indústria alimentícia, quando manipulados de forma inadequada podem levar à adaptação das bactérias e consequentemente à resistência bacteriana (TECHARUVICHIT et al., 2016; MELO et al., 2017).

Diante do desenvolvimento da resistência microbiana a agentes sanitizantes utilizados na indústria alimentícia, alguns estudos abordando o uso de fitoquímicos vêm sendo desenvolvidos (WAGLE et al. 2019).

SERIO e colaboradores (2014) sugerem que extratos de plantas obtidos a partir de solventes alcoólicos têm potencial antimicrobiano contra patógenos de origem alimentar, podendo ser considerados como alternativas ao uso de sanitizantes sintéticos.

O potencial do extrato polifenóico de águas residuais de moinhos de azeitonas também foi estudado por Roila et al. (2019) apresentando resultados satisfatórios como alternativa para o controle de biofilmes de bactérias do gênero *Campylobacter*. O composto por sua vez teve inclusive a capacidade de inibir a formação de biofilmes.

Estudos envolvendo o uso de extrato de mosto de pele e semente de uvas Pinot noir apresentaram bons resultados em relação à cepas de *Campylobacter jejuni*, mostrando que as mesmas foram incapazes de invadirem e sobreviverem em células tipo H4 de humanos, o que representa a relevância destes compostos como antimicrobianos (KLANCNIC et al. 2017).

A diminuição de biomassa de biofilmes formados por cepas de *Campylobacter jejuni* também foi analisada mediante o uso de metaperiodato de sódio e proteinase K. Estes compostos mostraram sua ação na degradação da matriz, permitindo assim uma penetração mais eficiente de agentes antimicrobianos através da mesma (MELO et al., 2017).

COLETA E TRANSPORTE DE AMOSTRAS

O sucesso dos resultados laboratoriais de identificação de agentes patogênicos depende de inúmeros fatores, dentre eles a qualidade da amostra, desde sua coleta, armazenamento e transporte. A coleta e o transporte inadequados podem gerar falhas no isolamento do agente etiológico levando a um diagnóstico impreciso ou errôneo. Portanto, procedimentos adequados de coleta devem ser adotados.

As amostras destinadas à identificação de *Campylobacter*, devem ser coletadas e armazenadas levando-se em consideração as características do gênero, já que requerem baixa concentração de oxigênio, são sensíveis à desidratação e suportam baixas temperaturas, porém são sensíveis ao congelamento (ISO, 2006).

Desta maneira, as amostras devem ser coletadas e transportadas sob refrigeração e processadas o quanto antes. Amostras íntegras como órgãos ou carcaças podem ser embaladas e transportadas em sacos plásticos, já as amostras mais expostas às condições ambientais, como suabes de cloaca e de arrasto, devem ser transportadas em meio de conservação como Ágar Cary-Blair e Caldo Peptonado Tamponado 1% (CPT) para transporte de amostras sólidas e líquidas, respectivamente, pois apresentam capacidade tamponante, auxiliando a manutenção das amostras até seu processamento (RECH & VAZ, 2012).

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DISPONÍVEIS ATUALMENTE

A detecção da *Campylobacter* sp. é de suma importância. Isso porque, baixas doses infectantes podem causar doença em humanos. Além disso, o Brasil é o maior exportador de carne de frango do mundo, evidenciando a necessidade de um controle higiênico-sanitário rígido para maior segurança alimentar do consumidor mundial (EFSA, 2021; ABPA, 2021).

Atualmente utilizam-se diversos métodos para a detecção desta bactéria em agroindústrias e pesquisas, dentre eles, testes imunológicos, microbiológicos e moleculares (FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016).

A diferenciação e identificação das espécies de *Campylobacter* spp. é complexa e difícil, o que resulta em grande preocupação em relação a dados epidemiológicos (FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016). Em 2016, a maioria dos isolados na União Européia foi relatada *como C. jejuni, C. coli* ou *C. lari* (EFSA, 2021).

MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

A complexidade na detecção da *Campylobacter* spp. é decorrente dos nutrientes do meio de cultivo, microbiota competitiva, baixa quantidade de UFCs e necessidade de atmosfera microaerófila com concentração de O_2 entre 5 a 10% (TEJADA & TIMM, 2019).

As espécies termófilas desse gênero multiplicam-se em 37- 42°C em 48 horas, apresenta predileção por pH neutro (6,5 - 7,5). Além disso, há necessidade de suplementação nutricional para recuperação de células VNCs. Assim, é um grande desafio o isolamento e cultivo de *Campylobacter* (FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016).

Para a análise qualitativa de *Campylobacter* existem vários métodos validados, dentre os quais, o mais conhecido é o padronizado pela International Organization for Standardization (ISO, 2006). A figura 5 demonstra o fluxograma deste método no qual é realizado uma pré-incubação em meio seletivo por 4 horas a 37ºC em microaerofilia. O tempo de 4 horas é indicado para evitar o crescimento de contaminantes. A suspensão inicial é realizada com a amostra em caldo peptonado

tamponado, da qual uma parte é adicionada a nove partes de caldo Bolton.
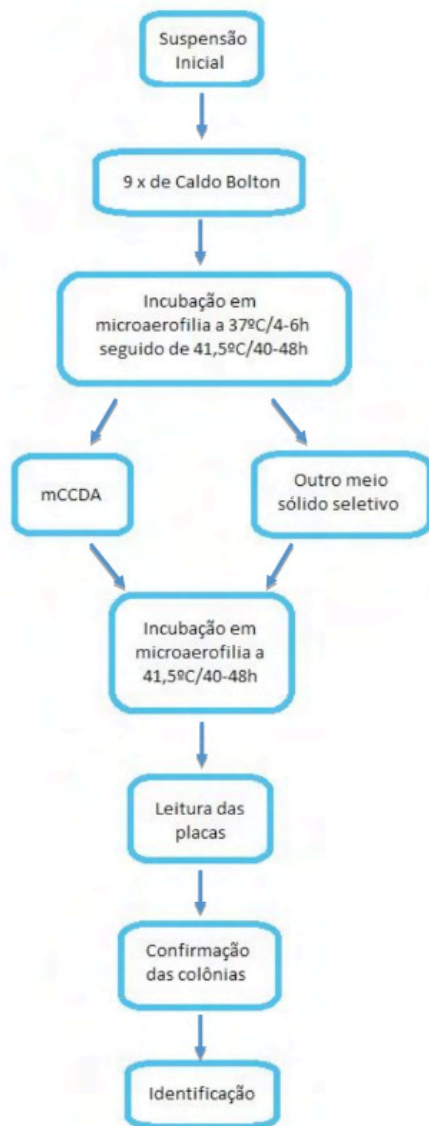
Figura 5. Fluxograma do isolamento de *Campylobacter* de amostras de origem aviária conforme ISO 10272-1:2006 adaptado

Tejada e Timm (2019), após testarem diversas metodologias de isolamento e cultivo, verificaram que o pré-enriquecimento do caldo Bolton enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de equino e caldo Brucella

seguidos do cultivo em ágar mCCDA, foram as metodologias mais eficientes e viáveis devido a quantidade de UFCs apresentadas em 24 horas de incubação, mostrando-se como técnicas padrão ouro em escala microbiológica.

No estudo de Tejada e Timm (2019), *C. jejuni* recuperou em 72,2% das amostras com pré-enriquecimento com caldo Bolton e 66,7% com o caldo Brucella, confirmando a descrição no trabalho de Bolton et al. (1984), em que o caldo Bolton enriquecido com sangue desfibrinado de equino propiciou o crescimento e recuperação de células injuriadas de *Campylobacter* spp.

Os meios de cultivo mais utilizados de acordo com Fernández, Ochoa & Simaluiza (2016), são Skirrow, Skirrow modificado, Columbia, Preston, Butzler, CampyBAP e Ágar Carvão Cefoperazona Desoxicolato Modificado (mCCDA). Em vários destes meios está inclusa a ciclohexamida ou anfotericina B como anti-fúngicos e alguns ágares seletivos possuem antibióticos para inibição da microbiota competitiva, como *Proteus* spp. e *Pseudomonas* spp., que geralmente acompanham a *Campylobacter* spp. e possuem crescimento sobreposto (DONNISON, 2003, COELHO et al.,2011).

O principal meio seletivo utilizado é o mCCDA (Figura 6), enriquecido com carvão ativado, caseína hidrolisada, peptona, cloreto de sódio, sulfato ferroso, piruvato de sódio, desoxicolato de sódio, cefoperazone, anfotericina B, ágar e possui pH 7,4 (FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016). Cefoperazone é uma cefalosporina de terceira geração, amplamente utilizada para inibir a flora entérica (BRITO et al., 2017).

De acordo com Fernandez & Pérez-Pérez (2016), a caracterização morfológica das colônias baseia-se na observação da coloração prateada das colônias com 48 horas, planas, de aspecto mucóide, com bordas irregulares, disseminam-se pelas estrias da semeadura e muitas vezes assemelham-se a gotas de água com 1 a 2 mm de diâmetro, convexas e brilhantes.
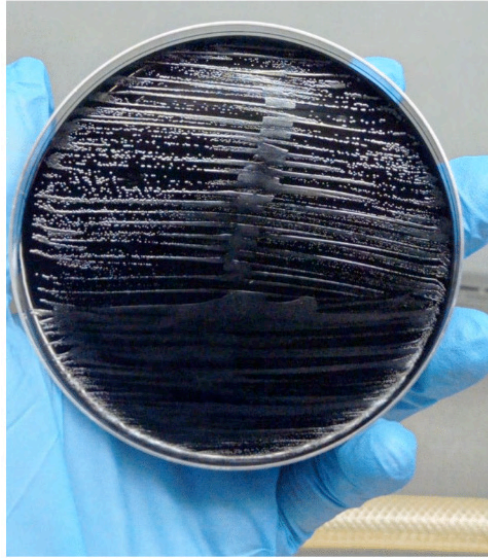
Figura 6. Morfologia de colônias características de *Campylobacter* spp. no meio m-CCDA

Fonte: Própria autoria

A microscopia é utilizada para confirmação das colônias morfologicamente suspeitas de *Campylobacter* spp. e a técnica mais difundida é a coloração de Gram (Figura 7). A coloração de Gram para esse gênero é feita com fucsina fenicada 0,8%, a bactéria apresenta coloração rosa, indicativo de microrganismo Gram-negativo, em formato de bacilos curvos espiralados e podem ser observadas formas de “S” e “asas de gaivota”, com movimentos espirais no aumento de 100x (GHARST et al., 2013; GHAFFAR, CONNERTON & CONNERTON, 2015). Geralmente formam pequenas cadeias em “zig-zag”, porém, células velhas ou injuriadas podem apresentar padrão cocóide.
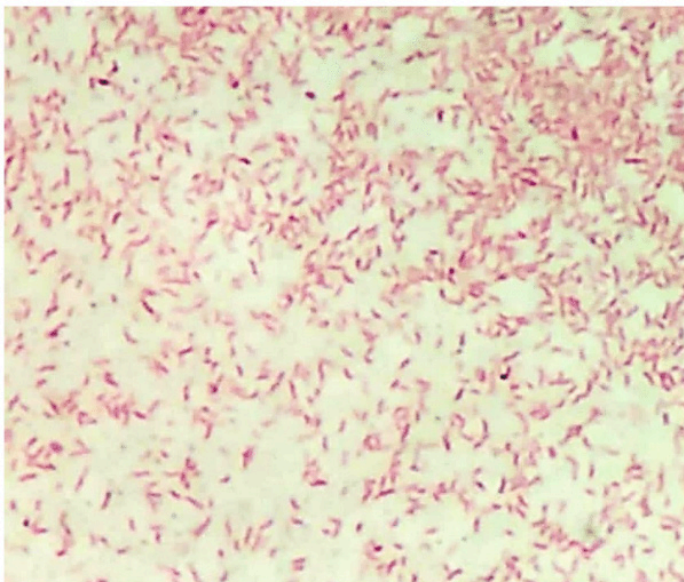
Figura 7. Coloração de Gram evidenciando a morfologia em forma de “s” ou “asas de gaivota” de *Campylobacter* spp (100x)

Fonte: Própria autoria

Provas bioquímicas são ideais para identificação de *Campylobacter* spp. e estão demostradas na Tabela 2.

Para a diferenciação das espécies *C. jejuni, C. coli* e *C. lari,* são realizadas as provas de hidrólise do hipurato. O teste de sensibilidade a ácido nalidíxico é descrito como prova diferencial das espécies de *Campylobacter* (ISO, 2006).

Algumas cepas podem apresentar fenótipo atípico de incapacidade de hidrolisar hipurato, portanto, para minimizar este problema, foi criado o sistema API® Campy para diferenciação de *C. coli* e *C. jejuni* por meio de diversas provas e analisado por um software (FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016).

Provas bioquímicas	*C. coli*	*C. lari*	*C. jejuni*
Catalase	Positivo	Positivo	Positivo
Crescimento:			
25°C	Negativo	Negativo	Positivo
42°C	Positivo	Positivo	Positivo
Crescimento:			
3,5% NaCl	Negativo	Variável	Negativo
1% glicina	Negativo	Positivo	Positivo
Produção H2S:			
com cisteína	Variável	Positivo	Positivo
sem cisteína	Positivo	Positivo	Negativo
Redução do selenito de sódio	Positivo	Positivo	Negativo
Hidrólise do hipurato	Negativo	Negativo	Positivo
Resistência ao N.A.	Negativo	Positivo	Positivo
Tolerância ao T.T.C.	Positivo	Negativo	Negativo

N.A.= Ácido Nalidíxico e TTC = Cloreto 2,3,5 trifeniltetrazólio. Adaptado de CARAMORI-JUNIOR et al., 2002.

Tabela 2. Provas bioquímicas para identificação das principais espécies patogênicas do gênero *Campylobacter*

Campylobacter foi isolada pela primeira vez por Dekeyser e colaboradores em 1972, de pacientes com diarréia por meio de filtração da das fezes em membrana de poro de 0,65μm, e posterior semeadura em meio seletivo, resultando em redução de outros microrganismos comumente encontrados em amostras fecais (PINHEIRO, 2005).

Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI)

A técnica de espectrometria de massa consiste em mensurar o sinal iônico de um composto por meio da razão da sua massa pela carga (m/z), permitindo a identificação de compostos químicos a partir de um composto isolado. Estudos proteômicos que empregam a espectrometria de massa são utilizados na detecção rápida de patógenos em alimentos. A técnica

de espectrometria de massa com fonte de ionização e dessorção a laser assistida por matriz - MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization) é utilizado para comparar o espectro de massa de um microrganismo isolado com os espectros de referência de cepas conhecidas para classificar e identificar o patógeno com mais rapidez do que os métodos convencionais (BIER et al, 2017).

A amostra é ionizada por bombardeamento de elétrons que torna a amostra carregada. Ao passarem por um campo elétrico ou magnético, partículas carregadas são separadas de acordo com a sua relação m/z e são detectadas por um mecanismo que gera corrente elétrica. *Softwares* específicos transformam esses diferentes sinais elétricos em espectro de massas de acordo com a relação m/z das partículas carregadas. A ionização do tipo MALTI permite a dessorção dos peptídeos e proteínas a partir de esporos, células vegetativas ou da bactéria íntegra (PERES, 2020).

MÉTODOS MOLECULARES

Os métodos moleculares anteriormente utilizados em estudos epidemiológicos (GOERING, 2010; SIEMER; NIELSEN; ON, 2005) estão agora também disponíveis para a indústria alimentícia, de maneira que as diferenças entre matrizes alimentares e a precisão de identificação de microrganismos (JUSTE; THOMMA; LIEVENS, 2008) podem ser incorporadas para o controle e prevenção da qualidade e segurança alimentar (MELO, ROBERTA T *et al.*, 2019).

Estas metodologias têm como ponto central as sequências de DNA amplamente disponíveis em diferentes bancos de dados públicos (D'AURIA; PUSHKER; RODRIGUEZ-VALERA, 2006; MAIDAK *et al.*, 1992) permitindo a identificação das espécies por comparação com os dados de sequências disponíveis (FRASAO, MARIN & CONTE-JUNIOR, 2017). Os avanços destas técnicas permitiram a compreensão da epidemiologia (BEHRINGER; MILLER; OYARZABAL, 2011) e a quantificação rápida e direta de *Campylobacter* spp. na produção comercial de aves (HE *et al.*, 2010) e outros substratos mais complexos, como fezes e amostras ambientais (LEBLANC-MARIDOR *et al.*, 2011).

Didaticamente, as técnicas moleculares (Tabela 3) podem ser

compreendidas por: ferramentas utilizadas para a identificação de *Campylobacter* spp., como reação em cadeia da polimerase (PCR), Multiplex PCR, Real time PCR, Multiplex Real Time PCR e tipagem, tais como Tipagem de Sequência Multilocus (MLST), Sequenciamento de Genoma Completo (WGS), Eletroforese em Gel de Campo Pulsado (PFGE), (FRASAO, MARIN & CONTE-JUNIOR, 2017). Os métodos de identificação molecular para *Campylobacter* spp. são rápidos e de boa acurácia e utilizam-se da detecção de segmentos específicos de DNA que são sequenciados, amplificados e visualizadas em um gel ou quantificados diretamente para detecção, quantificação e tipagem molecular.

Dessa forma, empregar técnicas de biologia molecular como a PCR e o sequenciamento permitem resultados mais ágeis de identificação (FRASAO, MARIN & CONTE-JUNIOR, 2017). As ferramentas de PFGE e MLST são utilizadas para avaliações de proximidades filogenéticas (BEHRINGER, MILLER & OYARZABAL, 2011; DE MELO *et al.*, 2021; GOERING, 2010; MANFREDA *et al.*, 2016; OH *et al.*, 2017) e caracterização da variabilidade dentro de uma espécie (BEHRINGER, MILLER & OYARZABAL, 2011).

Ferramentas moleculares	*Campylobacter*	Matriz	Objetivo	Referências
PCR	*C jejuni*	Carcaças de frango	genes *flaA, ciaB, cadF, pldA e cdtABC*	(MELO,*et al.*, 2019)
Multiplex PCR	*C. jejuni* e *Listeria monocytogenes*	Carne de frango	*Hyp* (500 bp) *prfA* (290 bp), respectivamente	(RAJA *et al.*, 2016)
qRT-PCR	*C. jejuni*	Aves, leite e água	VS15 e VS16 de *C. jejuni* VS1 (número de acesso GenBank X71603)	(YANG *et al.*, 2003)
Multiplex qRT-PCR	*C. jejuni* associado a Salmonella e *Shigella*	Fezes	16SrRNA, *invA e ipaH*, respectivamente	(BARLETTA *et al.*, 2013)
			Comparação com métodos fenotípicos e moleculares	BESSÈDE et al, 2011)
MLST	*C jejuni*	Isolados humanos	Relação de ST-572, ST-18, ST-21, ST-828, e ST-5221 e resistência antimicrobiana	(ELHADIDY *et al.*, 2020)
WGS	*C. coli* e *C jejuni*	Carnes e órgãos de frangos, bovinos, cordeiro e suínos	Tipos de sequências dominantes (STs)	(WALLACE *et al.*, 2020)
WGS	*C. coli* e *C jejuni*	Amostras clínicas, carnes e isolados de ceco	Identificação de perfis de resistência a antimicrobianos	(ZHAO *et al.*, 2016)
PFGE	*C. jejuni*	Carcaças de aves e fezes humanas	genes *flaA*, *Hcp, ciaB, cadF, pldA, luxS, dnaJ, htrA, cbrA, cstII e neuA*	(MELO, *et al.*, 2021a)

Tabela 3. Detecção de *Campylobacter* spp. utilizando-se técnicas moleculares de identificação (PCR ou multiplex PCR) e quantificação (qRT-PCR ou multiplex qRT-PCR) e tipagem (MLST, WGS e PFGE) em diferentes amostras.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A PCR é uma técnica de biologia molecular que se baseia na amplificação de um fragmento alvo, por meio de processo similar a replicação, porém, in vitro. Este teste utiliza primers, como a sequência de nucleotídeos iniciadores "*forward*" e o "*reverse*", que representa a

sequência da região final do fragmento alvo (BUTZLER, 2004; SAMBROOK & RUSSEL, 2001).

A reação possui três etapas (figura 8): a desnaturação, que representa a separação da fita dupla de DNA; o anelamento, que consiste na ligação do primer ao DNA que será amplificado e a extensão, que é o momento em que ocorre a formação do fragmento alvo na nova fita de DNA (ELNIFRO et al., 2000; SAMBROOK & RUSSEL, 2001).

A PCR é a principal técnica de diagnóstico molecular e dela originaram-se diversas outras, como: RT-PCR, RFLP, qPCR, Nested-PCR e PCR multiplex (FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016). Segundo Fernández, Ochoa & Simaluiza, 2016, este teste molecular possibilita pesquisar um grande número de amostras, redução de tempo na análise diagnóstica, identificação, detecção, genotipagem e diferenciação de espécies patogênicas com maior precisão (FRASAO, MARIN & CONTE-JUNIOR, 2017). Principalmente entre *C. coli* e *C. jejuni* por detectar fragmentos específicos (genes ou proteínas) no DNA do patógeno, confere maior especificidade e sensibilidade às PCRs realizadas em carcaças de frango e em humanos com gastroenterite alimentar (BUTZLER, 2004; REIS, 2015).

Além disso, a utilização desta ferramenta permite avaliar diferentes fatores de virulência e adaptabilidade a condições adversas em produtos de origem animal e amostras clínicas humanas, incluindo a capacidade de causar a Síndrome de *Guillain-Barré* (DE MELO *et al.*, 2021).

Com a evolução da técnica, permitiu-se a quantificação absoluta do DNA do modelo alvo por meio do intercalamento de corantes fluorescentes com posterior leitura por sistemas especializados de imagem a laser que deram origem ao PCR em tempo real ou PCR quantitativa, amplamente denominadas como qPCR (KRALIK & RICCHI, 2017).
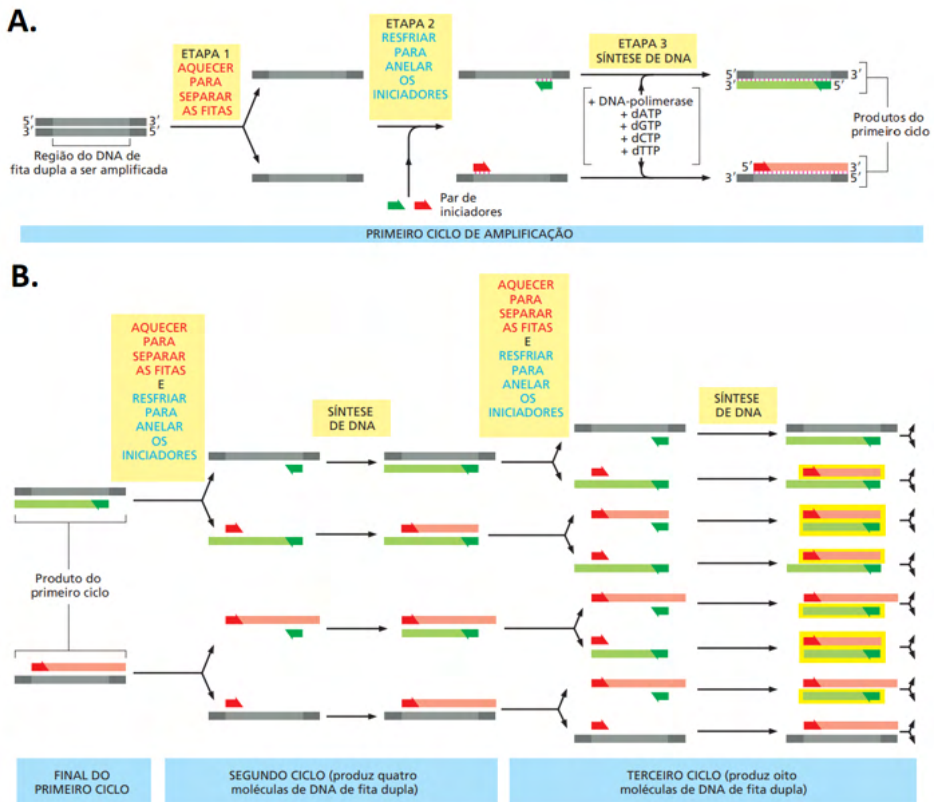
Figura 8. Amplificação de DNA por meio de PCR. Em (A) estão representadas as etapas do primeiro ciclo: desnaturação, anelamento e extensão. Em (B) o processo indicado em A é repetido em cada ciclo, aumentando o número de cópias de DNA. (adaptado de ALBERTS et al, 2011)

A quantificação por PCR em tempo real tem uma ampla aplicabilidade para identificação de *Campylobacter* em diferentes matrizes alimentares (YANG, LI & JOHNSON, 2001). No Brasil, esta metodologia foi aplicada em carcaças de frango resfriadas e congeladas, provenientes de um abatedouro avícola no Centro Oeste de Minas Gerais sob Inspeção Federal e evidenciaram 52,32% de *C. jejuni e C. coli* (REIS, 2015). Mesmo com a subnotificação no país, destaca-se a alta ocorrência desta bactéria devido à elevada especificidade e sensibilidade do teste utilizado, implicando riscos à saúde pública.

Para a avaliação de múltiplos genes, o Multiplex PCR possui como vantagem a avaliação em uma única amostra, produzindo resultados com precisão (RICKE *et al.*, 2019) e que podem ser associados a identificação

simultânea de outros patógenos como *E.coli*, *Salmonella typhimurium* (PARK *et al.*, 2011) e *Listeria monocytogenes* (RAJA *et al.*, 2016) maximizando o rastreamento e o controle de microrganismos.

Tipagem de Sequência Multilocus (MLST)

A técnica de MLST (*Multilocus Sequence Typing)* envolve a amplificação do DNA por PCR seguida de sequenciamento e mede diretamente as variações da sequência de DNA em um conjunto de genes podendo caracterizar as cepas dos microrganismos pelos seus perfis alélicos exclusivos. A metodologia é baseada no sequenciamento de genes essenciais denominados genes *housekeeping* (GOMES, 2015) e supera os problemas de reprodutibilidade inter-laboratoriais, permitindo comparação dos isolados entre diferentes locais do mundo (MAIDEN *et al.*, 1998).

Primeiramente é feita a identificação da sequência de nucleotídeos dos fragmentos do gene, em seguida estas sequências recebem números de alelos e são combinadas em um perfil alélico que será armazenado em um banco de dados. Finalmente, o parentesco dos isolados é feito comparando-se os perfis alélicos deste conjunto de dados possibilitando estudos epidemiológicos e filogenéticos de um determinado microrganismo (MAIDEN et al, 1998).

Essa técnica é amplamente aplicada para o estudo da epidemiologia de campilobacteriose e recentemente tem sido aplicada no rastreamento e na disseminação de estirpes de *C. jejuni* resistentes a antimicrobianos (ELHADIDY *et al.*, 2020).

A figura 9 mostra os isolados de *Campylobacter jejuni e coli* submetidos ao PubMLST, bancos de dados público para tipagem molecular e diversidade do genoma microbiano, que é uma coleção de bancos de dados de acesso aberto com curadoria que integra dados de sequência populacional com Informações de procedência e fenótipo para mais de 100 espécies e gêneros microbianos diferentes.
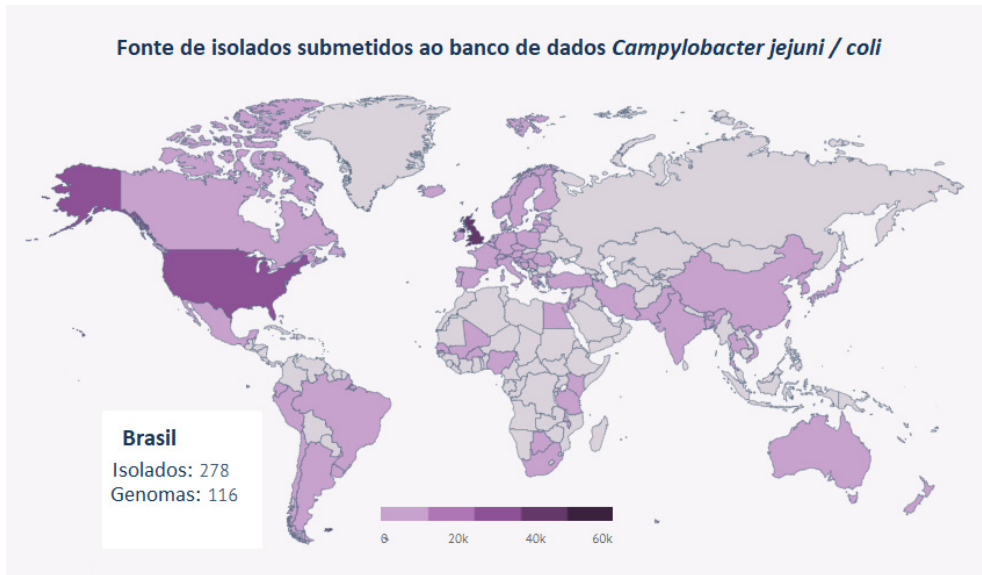
Figura 9. Isolados de *Campylobacter jejuni* e *coli* submetidos ao banco de dados público para tipagem molecular e diversidade do genoma microbiano (PubMLST).

Fonte: Jolley *et al.* 2018.

Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE)

O PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*) é uma técnica que utiliza o sistema de eletroforese com campos elétricos alternados que forçam os fragmentos de DNA a mudarem de direção continuamente, formando as bandas. Dessa forma, diferentes isolados com o mesmo padrão de bandeamento são considerados a mesma cepa (GOERING, 2010). Apesar de ser considerada técnica padrão ouro para tipagem de microrganismos, é uma técnica laboriosa e requer quantidade e qualidade de material genético para seguir o protocolo de referência, caso contrário pode inviabilizar comparações com padrões de bandeamento.

Sequenciamento de genoma completo (WGS)

O WGS (*Whole Genome Sequencing*) trouxe mudanças significativas sobre a genética e a biologia molecular, ampliando o conhecimento da plasticidade dos patógenos (RICKE *et al.*, 2019) através de uma forma altamente específica de detectar segmentos de DNA. Desta forma, permitiu a determinação de espécies e mesmo subespécies de patógenos (GHARST, OYARZABAL & HUSSAIN, 2013) em uma variedade de produtos

e órgãos de diferentes espécies, além de verificações quanto aos perfis de resistência antimicrobianas das estirpes (WALLACE *et al.*, 2020) que permitem uma análise global.

A metodologia de WSG tornou-se a abordagem preferida de vigilância e diagnóstico das agências reguladoras de vigilância em saúde (TABOADA *et al.*, 2013) no entanto, exige a aquisição de equipamentos de alto custo além de especialistas em bioinformática para interpretação de dados.

Independentemente do método escolhido, os métodos e protocolos específicos precisam ter critérios com base nas amostras (clínicas ou matrizes alimentares), conveniência, mão-de-obra especializada, tempo de execução e custos de reagentes e equipamentos.

MÉTODOS IMUNOLÓGICOS

Diversos métodos imunológicos são empregados para identificação em pesquisas e diagnósticos clínicos desse microrganismo (Tabela 4), por possuírem alta sensibilidade e especificidade. No entanto, reações cruzadas significativas entre *C. jejuni* e *C. coli*, podem influenciar os resultados, pois sua divergência genética não é significativa (REIS, 2015). Métodos imunológicos dedicados à detecção e quantificação de *Campylobacter* spp. foram amplamente revisados e evidenciaram que alguns ensaios imunológicos comerciais são promissores, entretanto necessitam de um enriquecimento prévio em caldo por 48 horas (OYARZABAL & BATTIE, 2012).

O princípio dos testes imunológicos é a detecção de anticorpos anti-*Campylobacter* ou antígenos (Ag) e epítopos de superfície. Os principais ensaios relacionados a esta metodologia envolvem: Ensaio de Imunoadsorção Ligado à Enzima (ELISA), Teste de Aglutinação em Látex e Ensaio Fluorescente Ligado à Enzima (EFLA) (REIS, 2015; FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016). Mais complexa, a técnica de citometria de fluxo permite avaliar múltiplos parâmetros de maneira individualizada, mas quando comparada aos ensaios enzimáticos requer equipamento e equipe técnica mais especializada para preparar, processar e avaliar os dados (RICKE et al., 2019).

Ferramentas imunológicas	*Campylobacter*	Matriz	Objetivo	Referências
Anticorpos monoclonais 33D2	*C. coli* e *C. jejuni*	Isolados de aves e humanos	Epítopos de *C. jejuni* e *C. coli*	(HEO *et al.*, 2009)
Antígenos de superfície	*Campylobacter* spp.	Carcaças de frango resfriadas e congeladas	Ensaio imunoenzimático de fluorescência	(REIS *et al.*, 2018)
Citometria de fluxo	*C. jejuni*	Água	Células individualizadas	(TRIGUI *et al.*, 2015)
Biosensores	*C. jejuni*	Patógenos de origem alimentar	Imunossensor QCM com anticorpos policlonais de coelho e nanopartículas de ouro	(MASDOR, ALTINTAS & TOTHILL, 2016)

Tabela 4. Detecção de *Campylobacter* spp. utilizando-se técnicas imunológicas em diferentes amostras

Ensaio de Imunoadsorção Ligado à Enzima (ELISA)

Os testes sorológicos mais utilizados para detecção deste patógeno são os testes de ELISA e diversos testes rápidos estão comercialmente disponíveis, como: Dryspot *Campylobacter* Test Kit® (OXOID), Immunocard Stat!® Campy (MERIDIAN DIAGNOSTICS), PremierTM Campy Assay (MERIDIAN BIOSCIENCES), ProSpect *Campylobacter* Assay® (REMEL) e Ridascreen *Campylobacter*® (r-biopharm AG); e EFLA (JORGE, 2005; FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016).

Como fundamento, os testes imunoenzimáticos envolvem reação antígeno-anticorpo (Ag-Ac) específica, na qual o antígeno presente na amostra se liga a um anticorpo específico marcado com enzima, e a reação é visualizada pela intensidade de coloração (Figura 10). Os testes de ELISA possuem como vantagem o processamento de muitas amostras ao mesmo tempo com diferentes possibilidades de aplicação metodológica (ELISA direto, indireto, sanduíche), o que possibilita modificar a seletividade baseada em diferentes alvos de epítopos. Entretanto, possuem desvantagens como reações cruzadas e falsos positivos quando são avaliadas matrizes complexas (RICKE et al., 2019).
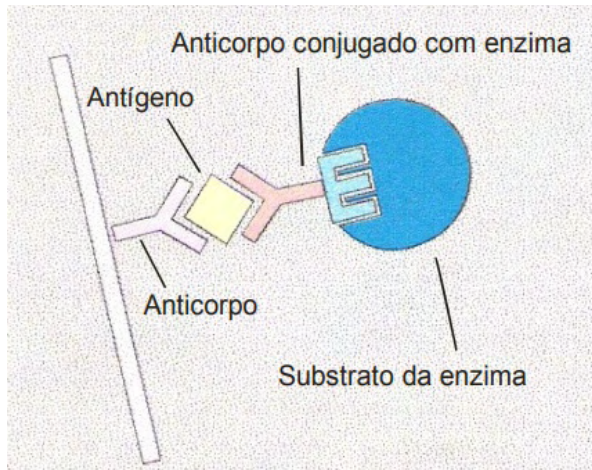
Figura 10. ELISA tipo sanduíche direto.

Fonte: JORGE, 2005

Teste fluorescente ligado a enzimas (ELFA)

O ensaio imunoenzimático fluorescente é baseado no método sanduíche com detecção por fluorescência, em que o complexo antígeno-anticorpo é marcado com um anticorpo associado à enzima fosfatase alcalina composto fluorescente (OYARZABAL & BATTIE, 2012; REIS, 2015).

A figura 11 mostra o esquema de ELFA, similar ao ELISA, porém com o substrato 4 metil umbeliferil fosfato (4MUP), que, ao ser hidrolisado pela enzima fosfatase alcalina, transforma-se em Umbeliferona, emitindo fluorescência a 450nm que é medida por equipamento específico.
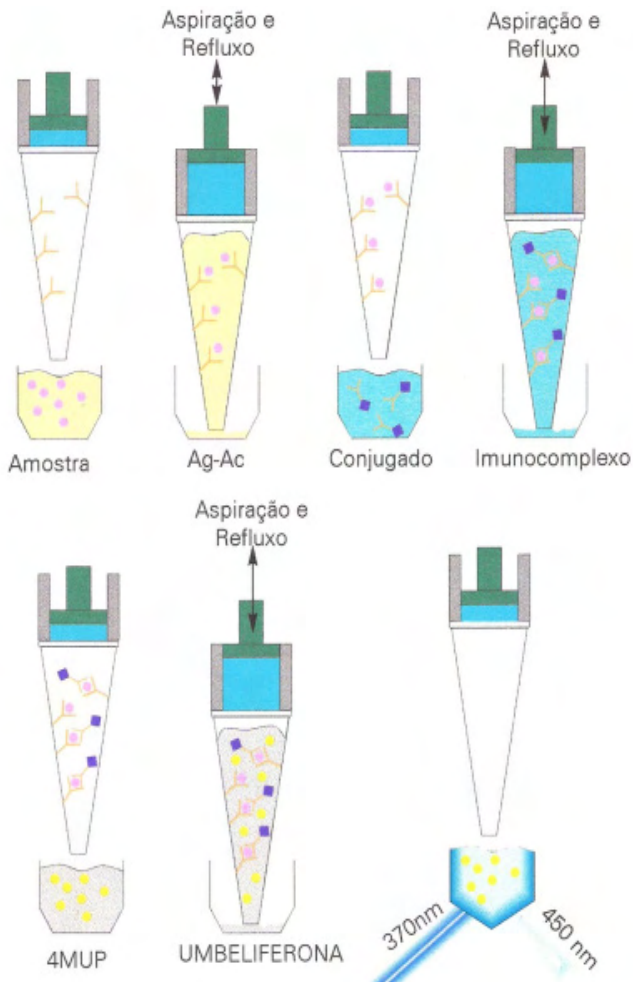
Figura 11. Esquema ELFA.

Fonte: JORGE, 2005.

Em trabalho realizado para avaliar a especificidade e a sensibilidade de dois ensaios imunoenzimáticos para detecção de *Campylobacter* spp. (VIDAS® e EiaFoss), verificou-se respectivamente 94% e 87% de sensibilidade em fezes, 96% e 31% em ossos e 64% e 73% em amostras de carne, além da especificidade de 93% encontrada em ambos (BORCK et al., 2002) enquanto Menezes (2013), detectou *Campylobacter* spp. em 2,08% das 240 carcaças de frangos submetidas à metodologia imunoenzimática.

Teste de Aglutinação em Látex

O teste de aglutinação e látex consiste em partículas de látex azul sensibilizadas com anticorpo de coelho reativo a antígenos de superfície celular de *Campylobacter*. Os reagentes de látex são secos em placas de reação e, ao entrar em contato com amostra contendo o antígeno, ocorre aglutinação do anticorpo ligado ao látex com os antígenos de *Campylobacter*. Se o extrato não contiver antígenos de *Campylobacter* reconhecidos, a aglutinação não ocorrerá e o resultado será negativo (LEE et al, 2004).

Os testes de aglutinação em látex são amplamente utilizados e têm mostrado alta sensibilidade e especificidade. Em comparação a outros métodos de detecção são mais rápidos variando de um minuto a dezesseis horas. São econômicos e fáceis de utilizar, além de não necessitarem de equipamentos sofisticados ou reagentes de custos mais elevados.

Novas Tecnologias para Diagnóstico imunológico

Embora demonstrem vantagens na detecção destas bactérias, alguns desafios associados à perda de sensibilidade e especificidade em espécies não comumente testadas e erros induzidos por matriz avaliada, como no caso de amostras clínicas, são evidenciados (GHARST, OYARZABAL & HUSSAIN, 2013). Desta forma, novas tecnologias ancoradas em nano sensores começaram a ser exploradas. Nestes biossensores a ligação com o anticorpo é convertida em sinais elétricos gerando resultados mais precisos na avaliação do patógeno em amostras mistas (MASDOR, ALTINTAS & TOTHILL, 2017).

Os avanços nas tecnologias de produção de anticorpos também envolvem metodologias que oferecem maior praticidade para análise de patógeno em plantas de processamento, como pesquisa de *Campylobacter jejuni* em ensaio colorimétrico utilizando-se de *swabs* de algodão conjugados com *nanobead* de cores diferentes que tornam os resultados fáceis de serem executados e processados pela diferenciação de cor dependente do patógeno avaliado (ALAMER *et al.*, 2018).

IMPORTÂNCIA DO CONTROLE E PROFILAXIA EM AGROINDÚSTRIAS

As medidas de controle e prevenção de patógenos são uma problemática mundial, principalmente em relação a agentes emergentes, como as espécies termotolerantes de *Campylobacter* sp. (HUMPHREY et al, 2007), especialmente *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis* (EFSA 2013). Um aumento na incidência global de campilobacteriose na América do Norte, Europa (KAAKOUSH et al., 2015) e Austrália (WALLACE et al., 2020) e dados epidemiológicos incipientes em outras regiões como na África, Ásia, Oriente Médio (KAAKOUSH et al., 2015) e Brasil (RODRIGUES et al., 2021) indicam que a infecção por *Campylobacter* é endêmica nessas regiões.

Apesar do Brasil ainda não ter instituído um programa de monitoramento sólido para este patógeno, o rastreamento e as pesquisas relacionadas a estas bactérias são essenciais. Estas bactérias são encontradas no trato intestinal de animais de produção, sendo as aves e os suínos os reservatórios mais comuns de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* (USDA 2013) e, por esse motivo, mesmo a aplicação de amplas modelagens e revisão de opções de controle são desafiadoras (KOUTSOUMANIS *et al.*, 2020). Além dos riscos relacionados ao consumo de produtos de origem animal mal processados, água, consumo de leite cru e produtos marinhos (SILVA *et al.*, 2011), animais domésticos (LEMOS et al., 2021) ou o uso recreativo da água também podem carrear o patógeno e todos eles são fontes de infecção para os humanos (GUY *et al.*, 2018).

Os produtos cárneos apresentam grandes prevalências do patógeno e evidenciam altas proporções em carne de frango (47,0%), codorna (43,0%), perdiz (35,3%), peru (28,8%), e avestruz (4,8%) (RAHIMI & AMERI, 2011). Nos produtos cárneos de suínos (BRATZ *et al.*, 2013) a prevalência varia de 21,1% de *C. jejuni* na Alemanha (VON ALTROCK *et al.*, 2013) a 42,4% de *C. coli* em explorações de suinicultura no Japão (HARUNA *et al.*, 2013). Além disso, em países onde o consumo de produtos lácteos não pasteurizados é permitido (LIU et al., 2020) como nos Estados Unidos, os surtos ligados a doenças de origem alimentar desta bactéria têm sido associados ao consumo de leite cru (TAYLOR *et al.*, 2013).

O número de casos de campilobacteriose humana aumentou em todo o mundo. Na Europa, a Autoridade Europeia para Segurança dos Alimentos

(EFSA) relatou que a campilobacteriose foi a zoonose mais documentada no ano de 2018 (CARDOSO *et al.*, 2021). Dessa maneira, os procedimentos e pontos críticos de manutenção da qualidade na indústria de alimentos, principalmente relacionados às contaminações de carcaças de frango em abatedouros e o extravasamento de conteúdo intestinal no processo de evisceração (FAO/WHO, 2009) são primordiais para prevenção durante o abate (JACXSENS *et al.*, 2011).

Embora o controle agroindustrial tenha essa importância primária no elo inicial da cadeia de alimentos, a maioria das infecções por *Campylobacter* sp. estão associadas ao consumo de aves e subprodutos que são contaminados durante o processamento (HERMANS *et al.*, 2011; WAGENAAR; FRENCH; HAVELAAR, 2013) e pelo consumidor (CARDOSO *et al.*, 2021).

Outra problemática para o controle de *Campylobacter* é que comumente pode estar presente em baixas concentrações ou na forma viável, mas não cultivável (VNC) (FERNÁNDEZ, OCHOA & SIMALUIZA, 2016) que, embora não possam ser detectadas por metodologias de cultura, podem infectar hospedeiros susceptíveis (SAHA & SANYAL, 1991). De acordo com Botteldoorn et al. (2008), existe uma enorme dificuldade para a identificação e distinção da *Campylobacter* nas formas viável e viável não cultivável de bactérias mortas. Nocker & Camper (2006), descreve um reagente que se liga ao DNA de células mortas ou que possuem lesões em membrana e impede que o DNA seja amplificado na PCR, permitindo a identificação e detecção somente de células viáveis e VNC que causam doença no consumidor.

Uma vez que a principal via de infecção é a alimentar, o controle eficaz requer medidas de mitigação que abrangem tanto os reservatórios animais quanto o hospedeiro humano (DAI *et al.*, 2020).

Devido a isso, medidas como secagem, baixa umidade, congelamento/descongelamento e altas temperaturas são o principal foco de controle e prevenção (SAHA & SANYAL, 1991). Para maximizar seu controle, toda a cadeia deve estar envolvida no modelo *farm to fork* para o controle do patógeno. Especificamente em fazendas, existem poucas metodologias de diagnóstico aprovadas que são realmente compatíveis com os testes a campo. Neste aspecto as medidas concentram-se em minimizar as fontes

de contaminação com implementação de barreiras sanitárias e controle de entrada de pessoas (SILVA *et al.*, 2011).

Nas plantas processadoras, a separação de lotes positivos e negativos, práticas de limpezas rígidas e controle do processo de evisceração, podem reduzir a propagação da contaminação (HAVELAAR et al 2007). Entretanto, para viabilizar a separação entre lotes, um programa específico para o controle de *Campylobacter* spp. necessita ser instituído no Brasil como ocorre para o controle de *Salmonella* spp. (BRASIL, 2016).

Em cozinhas domésticas ou cozinhas industriais, a aplicação de temperatura e tempos adequados de cozimento são suficientes para eliminar os microrganismos. É importante também evitar a contaminação cruzada entre alimentos crus e cozidos e superfícies de trabalho e utensílios não devidamente limpos e higienizados (CARDOSO *et al.*, 2021).

O congelamento de carcaças de frango parece ter papel primordial na diminuição de risco deste patógeno em pesquisas realizadas na Noruega (SANDBERG *et al*, 2006), embora o risco não tenha sido totalmente eliminado. Em associação, utilizar-se de campanhas educativas para conscientizar consumidores e processadores de alimentos sobre as formas de evitar e minimizar riscos de contaminação cruzada e instituição de boas práticas de fabricação, contribuem para evitar os riscos de toda população (CARDOSO *et al.*, 2021), especialmente de crianças e indivíduos imunocomprometidos (HUMPHREY, O'BRIEN & MADSEN, 2007).

Por fim, até o momento, novas estratégias de pesquisas têm sido avaliadas para reduzir a colonização de *Campylobacter* em animais produtores de alimentos em busca de resultados para melhorias na saúde pública e redução das fontes de infecção (DAI *et al.*, 2020). Estudos recentes propõem a utilização de probióticos com *Bacillus* e *Lactobacillus* (ARSI *et al.*, 2015; NEAL-MCKINNEY *et al.*, 2012) *e L. johnsonii* na redução da colonização e excreção de *Campylobacter jejuni* (GRACIA *et al.*, 2016) . Além destes, a utilização de ácidos graxos de cadeia curta e a utilização de bacteriófagos demonstraram ter eficiência no controle de campilobacteriose embora tenham limitações quanto ao controle ao longo do tempo (KITTLER *et al.*, 2013), sugerindo-se então uma aplicabilidade mais pontual, como uma medida pré-abate, de maneira que se mitiguem os riscos para o consumidor final (DAI *et al.*, 2020).

NORMATIVAS E LEGISLAÇÕES PARA O CONTROLE DE *Campylobacter* spp. EM CARCAÇAS DE FRANGO EM AGROINDÚSTRIAS

A União Europeia através da Autoridade Europeia para Segurança dos Alimentos e do Centro Europeu de Prevenção e Controle das Doenças afirma que a Campilobacteriose humana é a doença de origem alimentar mais notificada com 230 mil casos reportados anualmente.

Além disso, uma análise de prevalência feita em 2010 demonstrou que 75% das carcaças analisadas em frigoríficos estavam contaminadas por *Campylobacter* e que 20-30% dos casos é devido ao consumo e preparo da carne de frango, enquanto 50 a 80% de outros casos. Assim o frango desempenha papel de fonte infectante ao eliminar os patógenos no ambiente ou pelo contato direto (NORMA INTERNA, 2017; CE, 2017).

Então, para que fosse padronizado um método de controle e identificação, foi lançada uma instituição normativa com o objetivo de padronizar os métodos laboratoriais de análise desse patógeno. A ISO lançada em 2017 que entrou em vigor em 2018 tem com título “Microbiologia da cadeia alimentar - Método horizontal para detecção e enumeração de *Campylobacter* spp.”, sendo dividida em duas partes. A primeira conhecida como Método de detecção e a segunda que contém a parte sobre quantificação das bactérias por amostra (NORMA INTERNA, 2017; CE, 2017).

Desta forma, em 2017 a análise de *Campylobacter* passou a ser realizada em laboratórios oficiais no sul do Brasil para quantificação desta bactéria em carcaças de frangos. E, posteriormente, no mesmo ano, a União Européia instituiu o monitoramento deste agente em carcaças de frango destinadas à exportação a partir de janeiro de 2018, estabelecendo como limite máximo 10^3 UFC.g-1 conforme a normativa instituída (NORMA INTERNA, 2017; CE, 2017).

Apesar de a Campilobacteriose ser uma doença subdiagnosticada e subnotificada, o Brasil não possui legislações que incitam o controle dessa zoonose alimentar em granjas e produtos de origem avícola, gerando potencial risco à saúde pública. As exigências quando a segurança dos alimentos em relação a esse microrganismo patógeno se torna cada vez mais necessária. Assim, o mercado nacional deve se antecipar neste controle buscando o aprimoramento das técnicas de detecção, identificação

e controle (MELO et al., 2019).

MEDIDAS DE CONTROLE E PROFILAXIA PARA OS CONSUMIDORES

Requisitos básicos de boas práticas de manipulação devem ser considerados em relação às instalações e saneamento do estabelecimento, higiene dos funcionários, higiene na elaboração dos alimentos e cuidados nas formas de armazenamento e também durante o transporte de matérias primas e produtos acabados (BRASIL, 1997). Outros programas de autocontrole como Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) devem também ser instituídos na indústria de produção de frango de corte visando um produto final de alto padrão de qualidade e sanidade.

A ausência de inocuidade da carne de frango ou derivados, muitas vezes se dá pela presença da forma VNC do patógeno ou por contaminação durante o processamento, principalmente na evisceração, utilização de água contaminada e não congelamento do produto (COELHO et al., 2011, MELO et al, 2019). Portanto, embora sejam aplicados protocolos para prevenção de DTA's na indústria avícola, há a necessidade de educar e conscientizar os consumidores desta proteína animal quanto às boas práticas de manipulação e higienização dos alimentos que estão além do controle realizado da indústria (BRASIL2011).

O cozimento inadequado, a contaminação cruzada por meio da água de degelo do frango em contato com outros alimentos, a utilização da mesma tábua ou faca para cortar legumes e carne e a má higienização das mãos do manipulador favorecem a sobrevivência e transmissão da *Campylobacter* (DAMAS et al., 2010). Ainda que a carne seja bem cozida para o consumo, a manipulação da carcaça crua pode manter e disseminar a bactéria para os outros alimentos que são consumidos crus. Dessa forma, são necessárias medidas de higiene durante a preparação dos alimentos, como a lavagem das mãos com água e sabão antes do preparo dos alimentos, bem como a lavagem adequada dos utensílios que entraram em contato com a carne crua e que posteriormente serão utilizados para a manipulação dos alimentos que serão consumidos sem processamento térmico (LEE & NEWELL, 2006).

IMPORTÂNCIA DA DETECÇÃO DE *Campylobacter* spp. NA INDÚSTRIA AVÍCOLA

O setor avícola brasileiro necessita de avanços nos indicadores higiênico-sanitários para prevenção e controle de microrganismos patogênicos a fim de proporcionar segurança alimentar ao consumidor e, consequentemente, ocasionar a ampliação do mercado externo de frango de corte (MELO et al, 2017), visto que esta carne possui alto teor proteico e baixo custo, representando assim expressivo problema para a saúde pública (AZEREDO et al., 2010).

Azeredo, Luchese & Lauria-Filgueira (2010) realizaram cultivo de swabs de pele de carcaças de frango de um frigorífico com Serviço de Inspeção Estadual de Minas Gerais (Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA) e detectaram positividade de *Campylobacter* spp. em 27% das 70 amostras. *C. jejuni* foi identificada em 74% das amostras positivas. Em 2015, Reis avaliou a detecção de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango resfriadas e congeladas de um abatedouro em Minas Gerais, pelos métodos Imunoenzimático, PCR e PCR em Tempo Real. De 86 amostras, foram positivas pela PCR em Tempo Real 24 amostras refrigeradas (55,81%) e 21 amostras congeladas (48,84%) (REIS, 2015). O teste imunoenzimático exige maior carga bacteriana para detecção devido à baixa sensibilidade; já os testes de PCR possuem alta sensibilidade e especificidade, além da diferenciação entre as espécies *C. jejuni* e *C. coli* (JORGE, 2005).

Aves infectadas previamente podem disseminar a *Campylobacter* por meio do processamento de carcaças, devido a presença da bactéria no intestino, penas, pele e principalmente pela evisceração das aves (OLIVEIRA et al., 2019; POIETTI et al., 2020).

Uma vez a *Campylobacter* instalada na linha de abate, esse patógeno é capaz de permanecer e se disseminar por toda a cadeia produtiva permanecendo ali até o final da linha de produção, sendo esse fator muito importante a ser considerado em relação a esse patógeno. Estudos de tipagem molecular já demonstraram a presença de genótipos iguais desde o frango vivo até a carcaça do frango que seria destinada ao comércio (GRUNTAR et al., 2015). A persistência de populações de *Campylobacter* no ambiente industrial sendo fonte contínua de infecção pode ser explicada

por sua capacidade de formar biofilmes.

IMPORTÂNCIA DA DETECÇÃO DE *Campylobacter* spp. PARA A SAÚDE PÚBLICA

As organizações internacionais de saúde reportam constantemente a elevada ocorrência de campilobacteriose no mundo, ocupando lugar de destaque como principal doença transmitida por alimentos na União Européia e Estados Unidos da América e o principal veículo de transmissão associado a surtos alimentares é a carne de frango, correspondendo a 41% dos alimentos em geral (CDC, 2017; EFSA, 2021). Essa doença é considerada uma zoonose alimentar, por possuir animais como principais reservatórios da *Campylobacter* sp. e acometer humanos.

Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (2021), o Brasil é o maior exportador e terceiro maior em produção mundial de carne de frango, exigindo maior responsabilidade higiênico-sanitária quanto a esse patógeno, visto que oferece riscos à saúde pública por contaminação de carcaças, biofilmes em equipamentos de abatedouros, frigoríficos, açougues e contaminações cruzadas no preparo do alimento, ressaltando a necessidade de mais estudos sobre essa DTA para ampliar conhecimentos e dados epidemiológicos, auxiliando no controle, prevenção e diagnóstico (CARVALHO e CORTEZ, 2003).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2012), *Campylobacter* é a principal causa de formas graves de diarreia. No entanto, a maioria das pessoas apresentam uma recuperação rápida num período de dois a cinco dias, embora os sintomas possam continuar por cerca de dez dias. Outros sintomas possíveis são febre, dores de cabeça e abdominais, indisposição, náuseas, vômitos, perda de peso e cãibras. Pode ocorrer, mais raramente, formas mais graves da doença com uma sintomatologia que pode incluir sepse, aborto, meningite, abscessos e complicações como a síndrome de Guillain-Barré. Altekruse et al. (1999), afirma que a baixa quantidade de *Campylobacter* (500 UFC) pode causar infecção em humanos, variando de sintomas simples a graves (ZHANG, 2008; SCALLAN et al., 2015).

CONCLUSÃO

O gênero *Campylobacter* é o principal causador de DTA em países da Europa e nos EUA desde 2005. No Brasil, a ausência de registros de surtos relacionados a esta bactéria não descarta sua existência e, ao contrário, pode sugerir um subdiagnóstico e consequente subnotificação devido às dificuldades na identificação da bactéria no país.

O conhecimento acerca dos métodos diagnósticos microbiológicos, moleculares e imunológicos atualmente disponíveis para campilobacteriose, permitem o controle desta bactéria nos produtos de origem animal em todas as fases de produção, principalmente da carne de frango conforme a Normativa Interna de 2017, além de possibilitar o diagnóstico em humanos e auxiliar de forma eficaz nos levantamentos epidemiológicos, que promovem a melhoria das ferramentas no controle e prevenção desta DTA.

Este livro de revisão de literatura é de suma importância para profissionais da área de alimentos, saúde pública e indústrias avícolas, visto que esse patógeno representa potencial risco à saúde pública, uma vez que possui formas resistentes e propensão à formação de biofilme.

REFERÊNCIAS

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual de Atividades em 2020**. p.75, 2021. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf>. Acesso em: 20 set., 2021.

ALAMER, S. EISSA, S., CHINNAPPAN, R., & ZOUROB, M. A rapid colorimetric immunoassay for the detection of pathogenic bacteria on poultry processing plants using cotton swabs and nanobeads. **Microchimica Acta,** v. 185, n. 3, p. 164, 2018.

ALBERTS, B. JOHNSON, A., LEWIS, J., MORGAN, D., RAFF, M., ROBERTS, K., HUNT, T. Biologia Molecular da Celula. 5. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2011

ALMOFTI, Y. A. DAI, M., SUN, Y., HAO, H., LIU, Z., CHENG, G., & YUAN, Z. The physiologic and phenotypic alterations due to macrolide exposure in *Campylobacter* jejuni. **International Journal of Food Microbiology**, n.151, v.1, p.52-61, 2011.

ALTEKRUSE, S. F.; STERN, N. J.; FIELDS, P. I.; & SWERDLOW, D. L. *Campylobacter* jejuni - um patógeno emergente de origem alimentar. **Doenças infecciosas emergentes**, v.5, n.1, p.28-35, 1999.

ARSI, K. DONOGHUE, A. M., WOO-MING, A., BLORE, P. J., & DONOGHUE, D. J. The efficacy of selected probiotic and prebiotic combinations in reducing *Campylobacter* colonization in broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, n. 3, p. 327–334, 2015.

ATACK, J. M., KELLY, D. J. Oxidative stress in *Campylobacter* jejuni: responses, resistance and regulation. **Future Microbiology**. v.4, p.677-690, 2009.

AZEREDO, L. I.; LUCHESE, R. H.; LAURIA-FILGUEIRAS, A. L. *Campylobacter* spp in fresh meat poultry: chilling step assessment. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.69, n.4, p.518-524, 2010.

AZEVEDO, N. F.; CERCA, N. Bioflms in: health, environment, industry. **Porto: Publindústria**, p.396, 2012.

BARLETTA, F. MERCADO, E. H., LLUQUE, A., RUIZ, J., CLEARY, T. G., & OCHOA, T. J. Multiplex Real-Time PCR for Detection of *Campylobacter*, Salmonella, and Shigella. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 9, p. 2822–2829, 2013.

BATZ, M. B.; HOFFMANN, S.; MORRIS, J. G. Ranking the disease burden of 14 pathogens in food sources in the United States using attribution data from outbreak investigations and expert elicitation. **Journal of Food Protection**, v. 75, p. 1278-1291, 2012.

BAUGH S. The role of multidrug efflux pumps in biofilm formation of *Salmonella enteric* serovar Typhimurium. [thesis] Birmingham: University of Birmingham; 2013.

BEALES, N. Adaptation of microorganims to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 3, n. 1, p. 1-20, 2006.

BEHRENS, J. H., BARCELLOS, M. N., FREWER, L. J., NUNES, T. P., FRANCO, B. D., DESTRO, M. T., & LANDGRAF, M. Consumer purchase habits and views on food safety: a Brazilian study. **Food Control**, v.21, n.7, p.963-969, 2010.

BEHRINGER, M.; MILLER, W. G.; OYARZABAL, O. A. Typing of *Campylobacter* jejuni and *Campylobacter* coli isolated from live broilers and retail broiler meat by flaA-RFLP, MLST, PFGE and REP-PCR. **Journal of Microbiological Methods,** v. 84, n. 2, p. 194–201, 2011.

BENTO, A. Como fazer uma revisão da literatura: Considerações teóricas e práticas. **Revista JA** (Associação Académica da Universidade da Madeira), n.65, ano VII, maio, p.42-44, 2012.

BESSÈDE, E., SOLECKI, O., SIFRÉ, E., LABADI, L., & MÉGRAUD, F. Identification of *Campylobacter* species and related organisms by matrix assisted laser desorption ionization–time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. **Clinical Microbiology and Infection,** v17, p1735-1739. 2011.

BIER, D., TUTIJA, J. F., PASQUATTI, T. N., OLIVEIRA, T. L., ARAÚJO, F. R., & VERBISCK, N. V. Identificação por espectrometria de massa MALDI-TOF de Salmonella spp. e Escherichia coli isolados de carcaças bovinas. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v 37, p 1373-1379. 2017.

BOLTON, F. J.; COATES, D.; HUTCHINSON, D. N. The ability of *Campylobacter* supplements to neutralize photochemically induced toxicity and hydrogen peroxide. **Journal of Applied Bacteriology**, v.56, n.1, p.151-157, 1984.

BORCK, B.; STRYHN, H.; ERSBÙLL, A. K. Thermophilic *Campylobacter* spp. in turkey samples: evaluation of two automated enzyme immunoassays and conventional microbiological techniques. **Journal of Applied Microbiology**, v.92, p.574-582, 2002.

BOTTELDOORN, N.; VAN COILLIE, E.; PIESSENS, V.; RASSCHAERT, G.; DEBRUYNE, L.; HEYNDRICKX, M.; HERMAN, L. E.; MESSENS, W. Quantification of *Campylobacter* spp. em enxágue de carcaça de frango por PCR em tempo real. **Journal of Applied Microbiology**, v.105, p.1909-1918, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC n. 14, de 28 de fevereiro de 2007**: Regulamento Técnico para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana**. 2007.

BRASIL. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Campylobacter*. **Ministério da Saúde.** 44p. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, P. E A. – M. Instrução normativa nº 20, de 21 de outubro de 2016. **Diário Oficial da União**, p. 13, 2016.

BRASIL. Secretaria de vigilância em saúde do Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico 32. **Ministério da Saúde**, v.51, ago. 2020.

BRATZ, K. BÜCKER, R., GÖLZ, G., ZAKRZEWSKI, S. S., JANCZYK, P., NÖCKLER, K., & ALTER, T. Experimental infection of weaned piglets with *Campylobacter* coli – Excretion and translocation in a pig colonisation trial. **Veterinary Microbiology,** v. 162, n. 1, p. 136–143, fev. 2013.

BRITO, C. P. T.; DORNELES, E. M. S.; ALVES, T. M.; STYNEN, A. P. R.; LAGE, A. P. Antimicrobial susceptibility profile of *Campylobacter* spp. isolated from different animal species in Minas Gerais. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v.54, n.1, p.54-65, 2017.

BRONNEC, V.; TURNOVÁ, H.; BOUJU, A.; CRUVEILLER, S.; RODRIGUES.R.; DEMNEROVA, K.; TRESSE, O.; HADDAD, N.; ZAGOREC, M. Adhesion, biofilm formation, and genomic features of *Campylobacter* jejuni Bf, an atypical strain able to grow under aerobic conditions. **Frontiers in Microbiology**, v.7, 2016.

BROWN, H. L.; REUTER, M.; HANMAN, K.; BETTS, R. P.; VAN VLIET, A. H. M. Prevention of biofilm formation and removal of existing biofilms by extracellular DNases of *Campylobacter jejuni*. **Plos One**, v. 10, n. 3, p. 1-21, 2015.

BUTZLER, J. P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Clincal Microbiology and Infection**, v.10, p.868-876, 2004.

CAMPOS, R.; BOTUCATU, V. Avaliação da formação de biofilme e sensibilidade ao ácido peracético por Salmonella spp. isolada de abatedouro avícola. **Aleph**, p. 69 f., 2014.

CAPPITELLI, F.; POLO, A.; VILLA, F. Biofilm formation in food processing environments is still poorly understood and controlled. **Food Engineering Reviews**, v.6, n.1, p.29-42, 2014.

CARAMORI-JÚNIOR, J. G.; MODOLO, J. R.; PADOVANI, C. R.; LOPES, C. A. M. Presença de espécies de *Campylobacter* na mucosa dos segmentos intestinais de suínos com enterite/diarréia. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.69, n.1, p.13-17, 2002.

CARDOSO, M. J. FERREIRA, V., TRUNINGER, M., MAIA, R., & TEIXEIRA, P. Cross-contamination events of *Campylobacter* spp. in domestic kitchens associated with consumer handling practices of raw poultry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 338, p. 108984, 2021.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. C. Contaminação de produtos avícolas industrializados e seus derivados por *Campylobacter* jejuni e Salmonella sp. **Ars Veterinária,** Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 57-62, 2003.

CARVALHO, A. C. F. B.; LIMA, V. H. C.; PEREIRA, G. T. Determinação dos principais pontos de risco de contaminação de frangos por *Campylobacter*, durante o abate industrial. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, p.89-94, 2002.

CDC - Centers for Diseases Control and Prevention. *Campylobacter*, *Salmonella* levou a doenças bacterianas transmitidas por alimentos em 2016. 20 de abril de 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/media/releases/2017/p0420-*campylobacter* salmonella.html>. Acesso em: 30 ago. 2021.

CE. Regulamento (UE) 2017/1495 da Comissão de 23 de agosto de 2017 que altera o Regulamento (CE) nº 2073/2005 no que diz respeito à *Campylobacter* em carcaças de frangos de carne. **Jornal Oficial da União Europeia**, 2017.

CHAISOWWONG, W.; KUSUMOTO, A.; HASHIMOTO, M.; HARADA, T.; MAKLON, K.; KAWAMOTO, K. Physiological characterization of *Campylobacter jejuni* under cold stresses conditions: its potential for public threat. **Journal Veterinary Medical Science**, v.74, n.1, p.43-50, 2012.

CHMIELEWSKI, R. A. N.; FRANK, J. F. A predictive model for heat inactivation of Listeria monocytogenes biofilm on rubber. LWT, **Food Science and Technology**, v. 39, n. 1, p. 11-19, 2006.

CISCO, I. C.; TEDESCO, D.; PERDOCINI, G.; SANTOS, S. P.; RODRIGUES, L. B.; SANTOS, L. R. *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em carcaças de frango resfriadas e congeladas. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.18, n.1-6, 2017.

COELHO, L. R. et al. Campylobacter em frangos no Brasil – Revisão de literatura. **PUBVET**, Londrina, ed. 153, v.5, n.6, Art. 1033, 2011.

CORTEZ, A. L. L. et al. Survey of chicken abattoir for the presence of *Campylobacter* jejuni and *Campylobacter* coli. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.48, n.6, p.307-310, 2006.

DAMAS, T. M. T.; MARASSI, A. E. *Campylobacter* spp. Agente etiológico de doença de origem alimentar. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.24, n.180/181, p.85-90, 2010.

DAI, L. SAHIN, O., GROVER, M., & ZHANG, Q. New and alternative strategies for the prevention, control, and treatment of antibiotic-resistant *Campylobacter*. **Translational Research**, v. 223, p. 76–88, 2020.

D’AURIA, G.; PUSHKER, R.; RODRIGUEZ-VALERA, F. IWoCS: analyzing ribosomal intergenic transcribed spacers configuration and taxonomic relationships. **Bioinformatics,** v. 22, n. 5, p. 527–531, 2006.

DE MELO, R. T., DUMONT, C. F., BRAZ, R. F., MONTEIRO, G. P., TAKEUCHI, M. G., LOURENZATTO, E. C. A., ROSSI, D. A. Genotypical Relationship Between Human and Poultry Strains of *Campylobacter* jejuni. *Current Microbiology*, 2021.

DIAS, P. A.; MORAES, T. P.; WILSMANN, D. E.; FERRASSO, M. M.; MARINHEIRO, M. F.; HEINEN, J. G.; CALABUIG, C. I. P.; TIMM, C. D. Ocorrência de *Campylobacter* e Enterobacteriaceae em aves silvestres e frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 1, p. 225–231, 2019.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. M. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Review**, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002.

DONNISON, A. Isolation of Termotolerant *Campylobacter* – Review and methods for New Zealand laboratories. **Ministry of Health of New Zeland**, 2003.

DROZD, M. R. *Campylobacter* jejuni survival strategies and counter-attack: an investigation of *Campylobacter* phosphate mediated biofilms and the design of a high-throughput small-molecule screen for TAT inhibition. 2012. 173f. Thesis (Degree Doctor of Philosophy in the Graduate School of the Ohio State University) - Graduate Program in Veterinary Preventive Medicine, 2012.

DROZD, M.; CHANDRASHEKHAR, K.; RAJASHEKARA, G. Polyphosphate-mediated modulation of *Campylobacter* jejuni biofilm growth and stability. **Virulence**, v. 5, n. 6, p. 680–690, 2014.

DSMZ. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen. Prokaryotic Nomenclature up-to-date, 2017. Disponível em: <https://www.dsmz.de/bacterial-diversity/prokaryotic-nomenclature-up-to-date.html>. Acesso em: 30 ago. 2021.

EFSA - European Food Safety Authority. ECDC. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v.19, n.2, p.6406, 2021.

EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. **EFSA Journal**, v. 13, n. 1, 2015.

ELHADIDY, M. ALI, M. M., EL-SHIBINY, A., MILLER, W. G., ELKHATIB, W. F., BOTTELDOORN, N., & DIERICK, K. Antimicrobial resistance patterns and molecular resistance markers of *Campylobacter* jejuni isolates from human diarrheal cases. **PLOS ONE**, v. 15, n. 1, p. e0227833, 2020.

ELNIFRO, E. M.; ASHSHI, A. M.; COOPER, R. J.; KLAPPER, P. E. Multiplex-PCR: Optimization and application in diagnostic virology. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.13, n.4, p.559- 570, 2000.

EMBRAPA - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. Anais / I Workshop de Diagnóstico Microbiológico de *Campylobacter* Aplicado à Avicultura; Clarissa Silveira Luiz Vaz, Editora - Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2012. 42p.: il.; 29 cm. - (Documentos/Embrapa Suinos e Aves, ISSN 0101-6245); p.155, 2012.

ENGBERG J, AARESTRUP FM, TAYLOR DE, GERNER-SMIDT P, NACHAMKIN I. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* jejuni and C. coli: resistance mechanisms and trends in human isolates. **Emerg Infect Dis.** v7(1). p 24-34. 2001

FAO/WHO. 2009. Salmonella and *Campylobacter* in chicken meat: meeting report. Rome. **Microbiological Risk Assessment Series**, v.19. p.56, 2009.

FENG, J.; MA, L.; NIE, J.; KONKEL, M. E.; LU, X. Environmental Stress-Induced Bacterial Lysis and Extracellular DNA Release Contribute to *Campylobacter* jejuni

Biofilm Formation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.84, n.5, p. 563-575, 2017.

FERNÁNDEZ, H.; OCHOA, S.; SIMALUIZA, J. Bases Metodológicas para el Diagnóstico Bacteriológico de las Infecciones por *Campylobacter*. **Editora Copygraph Limitada**. Santiago - Chile, p.113, 2016.

FERNÁNDEZ, H.; PÉREZ-PÉREZ G. *Campylobacter*: fluoroquinolone resistance in Latin-American countries. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.48, n.3, p.255-259, 2016.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J.; SZEWZYK, U.; STEINBERG, P.; RICE, S. A.; KJELLEBERG, S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. **Nature Reviews Microbiology**, v.14, p.563-575, 2016.

FRASAO, B. DA S.; MARIN, V. A.; CONTE-JUNIOR, C. A. Molecular Detection, Typing, and Quantification of *Campylobacter* spp. in Foods of Animal Origin. *Comprehensive* **Reviews in Food Science and Food Safety,** v. 16, n. 4, p. 721–734, jul. 2017.

GARCÍA-SÁNCHEZ, L.; MELERO, B.; JAIME, I.; ROSSI, M.; ORTEGA, I. Biofilm formation, virulence and antimicrobial resistance of different *Campylobacter* jejuni isolates from a poultry slaughterhouse. **Food Microbiology**, v.83, p.193-199, 2019.

GHAFFAR, N. M.; CONNERTON, P. L.; CONNERTON, I. F. Filamentation of *Campylobacter* in broth cultures. **Frontiers in Microbiology**, v.6, n.657, 2015.

GHARST, G.; OYARZABAL, O.; HUSSAIN, S. Review of Current Methodologies to Isolate and Identify *Campylobacter* spp. from Foods. **Journal of microbiological methods**. v.95, n.1, Jul. 2013.

GHONEIM, N. H.; ABDEL-MOEIN, K. A.; BARAKAT, A. M. A. K.; HEGAZI, A. G.; ABD EL-RAZIK, K. A. E.; SADEK, S. A. S. Isolation and molecular characterization of *Campylobacter* jejuni from chicken and human stool samples in Egypt. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 195–202, 2020.

GIAOURIS, E.; NESSE, L. L. Attachment of *Salmonella spp*. to food contact and product surfaces and biofilm formation on them as stress adaptation and survival strategies. In: HACKETT, C. B. (ed.). *Salmonella*: prevalence, risk factors and treatment options, **Nova Iorque: Nova Science Publishers**, p. 111-136, 2015.

GIBNEY, K. B.; O'TOOLE, J.; SINCLAIR, M.; LEDER, K. Disease burden of selected gastrointestinal pathogens in Australia, 2010, **International Journal of Infectious Diseases**, v. 28, p. 176-185, 2014.

GOERING, R. V. Pulsed field gel electrophoresis: A review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, n. 7, p. 866–875, 2010.

GOMES, H. V.; RODRIGUES, R. K. Boas Práticas de Fabricação na Indústria de Panificação. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO,

26., 2006, Foz do Iguaçu. Anais eletrônicos... Fortaleza: XXVI ENEGEP, 2006. Disponível em: <http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2006_tr470321_7479.pdf> Acesso em: 05/12/2021.

GOMES, C. N. Caracterização molecular de linhagens de *Campylobacter* coli isoladas de origens diversas. Tese de doutorado. Faculdade de ciências farmacêuticas de ribeirão preto, 2015.

GRACIA, M. I. M., KEITA, A., QUESNE, S., AMELOT, M., POEZEVARA, T., LE BERRE, B., CHEMALY, M. . Efficacy of feed additives against *Campylobacter* in live broilers during the entire rearing period: Part B. **Poultry Science,** v. 95, n. 4, p. 886–892, abr. 2016.

GRUNTAR, I., BIASIZZO, M., KUŠAR, D., PATE, M., & OCEPEK, M. *Campylobacter* jejuni contamination of broiler carcasses: population dynamics and genetic profiles at slaughterhouse level. **Food microbiology**, v.50, p97-101. 2015.

GUERRY, P. *Campylobacter* flagella: not just for motility, **Trends in Microbiology**, v. 15, n. 10, p. 456-461, 2007.

GUINEY, D. G. Regulation of bacterial virulence gene expression by the host environment. **Journal of Clinical Investigation**, v. 99, p. 565-569, 1997.

GUY, R. A. ARSENAULT, J., KOTCHI, S. O., GOSSELIN-THÉBERGE, M., CHAMPAGNE, M. J., & BERTHIAUME, P. *Campylobacter* in recreational lake water in southern Quebec, Canada: presence, concentration, and association with precipitation and ruminant farm proximity. **Journal of Water and Health**, v. 16, n. 4, p. 516–529, 1 ago. 2018.

Haddock G, Mullin M, MacCallum A, Sherry A, Tetley L, Watson E, Dagleish M, Smith DGE, Everest P. Campylobacter *jejuni* 81-176 forms distinct microcolonies on in vitroinfected human small intestinal tissue prior to biofilm formation. **Microbiology**. v.156, p.3079–3084, 2010.

HARUNA, M. SASAKI, Y., MURAKAMI, M., MORI, T., ASAI, T., ITO, K., & YAMADA, Y. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Isolates from Beef Cattle and Pigs in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science,** v. 75, n. 5, p. 625–628, 2013.

HAVELAAR, AH, MANGEN, MJ, DE KOEIJER, AA, BOGAARDT, M., EVERES, EG, JACOBS-REITSMA, WF, VAN PELT, W., WAGENAAR, JA, DE WIT, GA, VAN DER ZEE, H., E NAUTA, M. Eficácia e eficiência do controle de *Campylobacter* na carne de frango de corte. **Risk Anal,** v. 27, p. 831–844, 2007.

HE, Y., YAO, X., GUNTHER, N. W., XIE, Y., TU, S. I., SHI, X. Simultaneous Detection and Differentiation of *Campylobacter* jejuni, C. coli, and C. lari in Chickens Using a Multiplex Real-Time PCR Assay. **Food Analytical Methods,** v. 3, n. 4, p. 321–329, 2010.

HENDRIXSON, D. R., DIRITA, V. J. Identification of *Campylobacter jejuni* genes involved in commensal colonization of the chick gastrointestinal tract. **Molecular**

Microbiology, 52, 471-484., 2004.

HERMANS, D. VAN DEUN, K., MESSENS, W., MARTEL, A., VAN IMMERSEEL, F., HAESEBROUCK, F., PASMANS, F. *Campylobacter* control in poultry by current intervention measures ineffective: Urgent need for intensified fundamental research. **Veterinary Microbiology**, v. 152, n. 3–4, p. 219–228, 2011.

HO T.W., MISHU B., LI C.Y., GAO C.Y., CORNBLATH D.R., GRIFFIN J.W., ASBURY A.K., BLASER M.J., MCKHANN G.M. Guillain-Barré syndrome in northern China. Relationship to *Campylobacter* jejuni infection and anti-glycolipid antibodies. **Brain**. v118 (Pt 3), p 597-605, 1995.

HUMPHREY, T.; O'BRIEN, S.; MADSEN, M. *Campylobacter*s as zoonotic pathogens: A food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v. 117, n. 3, p. 237–257, 2007.

IKEDA, N.; KARLYSHEV, A. V. Putative mechanisms and biological role of coccoid form formation in*Campylobacter* jejuni. **European Journal of Microbiology & Immunology**, v. 2, n. 1, p. 41, 2012.

INDIKOVA, I.; HUMPHREY, T. J.; HILBERT, F. Survival with a helping hand: *Campylobacter* and microbiota. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2015.

ISO - International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for detection and enumeration of thermotolerant *Campylobacter* spp. – Part 1: detection method. (**ISO 10272-1:2006**). Geneva: ISO, 16 p. 2006.

JACXSENS, L. LUNING, P. A., MARCELIS, W. J., VAN BOEKEL, T., ROVIRA, J., OSES, S., ... & UYTTENDAELE, M. Tools for the performance assessment and improvement of food safety management systems. **Trends in Food Science & Technology,** v. 22, p. S80–S89, 2011.

JANG, K. I., KIM, M. G., HA, S. D., KIM, K. S., LEE, K. H., CHUNG, D. H., KIM C. H. KIM, K. Y. Morphology and adhesion of *Campylobacter* jejuni to chicken skin under varying conditions. **Journal of microbiology and biotechnology**, v 17, p 202-206. 2007.

JOLLEY, K.A.; BRAY, J.E.; MAIDEN, M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications [version 1; peer review: 2 approved]. **Wellcome Open Res** 3:124, 2018

JORGE, L. S. Comportamento do *Campylobacter* jejuni em diferentes em diferentes substratos e comparação entre metodologias convencionais e métodos imunoenzimáticos para sua recuperação. 2005. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, 2005.

JUSTE, A.; THOMMA, B.; LIEVENS, B. Recent advances in molecular techniques to study microbial communities in food-associated matrices and processes. **Food Microbiology**, v. 25, n. 6, p. 745–761, 2008.

KAAKOUSH, N. O.; CASTAÑO-RODRÍGUEZ, N.; MITCHELL, H. M.; MAN, S. Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 687, 2015.

KEUM-IL, J. Morphology and adhesion of *Campylobacter jejuni* to chicken skin under varying conditions. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.17, n.2, p.202-206, 2007.

KIM, J.; PARK, C.; KIM, Y. Role of flgA for flagellar biosynthesis and biofilm formation of *Campylobacter jejuni* NCTC11168, **Journal Microbiology Biotechnology**, v. 25, p. 1871–1879, 2015.

KITTLER, S. FISCHER, S., ABDULMAWJOOD, A., GLÜNDER, G., & KLEIN, G. Effect of Bacteriophage Application on *Campylobacter* jejuni Loads in Commercial Broiler Flocks. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 79, n. 23, p. 7525–7533, 2013.

KLANCNIC, A.; PAGACAR, M. S.; TROST, K.; ZNIDARIC, M. T.; VODOPIVEC, B. M.; MOZINA, S. S. Anti-*Campylobacter* activity of resveratrol and an extract from waste Pinot noir grape skins and seeds, and resistance of *Campylobacter* jejuni planktonic and biofilm cells mediated via the CmeABC efflux pump. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 1, p. 65-77, 2017.

KONKEL, M. E.. KIM, B. J; KLENA, J. D.; YOUNG, C. R.; ZIPRIN, R. Characterization of the thermal stress response of *Campylobacter* jejuni. **Infection and Immunity,** v.66, n.8, p. 3666–3672,1998.

KOUTSOUMANIS, K., ALLENDE, A., ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A., BOLTON, D., BOVER-CID, S., CHEMALY, M. Update and review of control options for *Campylobacter* in broilers at primary production. **EFSA Journal,** v. 18, n. 4, 2020.

KRALIK, P.; RICCHI, M. A Basic Guide to Real Time PCR in Microbial Diagnostics: Definitions, Parameters, and Everything. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

LASTOVICA, A.J.; GODDARD, E.A.; ARGENT, A.C. Guillain-Barré syndrome in South Africa associated with *Campylobacter* jejuni O:41 strains. **J Infect Dis**. 176 Suppl 2:S139-43, 1997

LEBLANC-MARIDOR, M. BEAUDEAU, F., SEEGERS, H., DENIS, M., & BELLOC, C. Rapid identification and quantification of *Campylobacter* coli and *Campylobacter* jejuni by real-time PCR in pure cultures and in complex samples. **BMC Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 113, 2011.

LEE, Y.; MOON, B.; CHOI, J.; CHANG, H.; NOH, B.; PARK, J. Isolation, Identification, and Characterization of Aero-Adaptive *Campylobacter* jejuni. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 15, n. 5, p. 992–1000, 2005.

LEE, M. D.; NEWELL, D. G. *Campylobacter* in Poultry: Filling and Ecological Niche. **Bio One,** v. 50, n. 1, p. 1-9, 2006.

LEE, J. H.; JEONG, J. M.; PARK, Y. H.; CHOI, S. S.; KIM Y. H.; CHAE J. S.;

MOON, J. S.; PARK H.; KIM S.; EO, S. K. Evaluation of the methicilinresistant Staphylococcus aureus (MRSA) - screen latex agglutination test for detection of MRSA of animal origin. **J. Clin. Microbiol**. 42: 2780-2782, 2004.

LEMOS, M.-L. NUNES, A., ANCORA, M., CAMMÀ, C., COSTA, P. M. D., & OLEASTRO, M. *Campylobacter* jejuni in Different Canine Populations: Characteristics and Zoonotic Potential. **Microorganisms**, v. 9, n. 11, p. 2231, 2021.

LEVY, A. J. A Gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain od vibrio. **Yale Jounal of Biology and Medicine**, New Haven, v.18, p.243-258, 1946.

LEWIS, K. Riddle of biofilm resistance. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 4, p. 999–1007, 2001.

LIMA, T.; MIOTO, R. Procedimentos metodológicos na construção do conhecimento científico: a pesquisa bibliográfica. **Katálysis**, v.10, p.37-45, 2007.

LIN, S.; YANG, L.; CHEN, G.; LI, B.; CHEN, D.; LI, L.; XU, Z. Pathogenic features and characteristics of foodborne pathogens biofilm: biomass, viability and matrix. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, p. 285-291, 2017.

LIU, J., ZHU, Y., JAY-RUSSELL, M., LEMAY, D. G., & MILLS, D. A. Reservoirs of antimicrobial resistance genes in retail raw milk. **Microbiome,** v. 8, n. 1, p. 99, 2020.

MAIDAK, B. L.; OLSEN, G. J., LARSEN, N.; OVERBEEK, R.; MCCAUGHEY , J.; WOESE, C. R. The Ribosomal Database Project. **Nucleic Acids Research**, v. 20, n. suppl, p. 2199–2200, 1992.

MAGAJNA, B.; SCHRAFT, H. Evaluation of Propidium Monoazide and Quantitative PCR To Quantify Viable *Campylobacter jejuni* Biofilm and Planktonic Cells in Log Phase and in a Viable but Nonculturable State. **Journal of Food Protection**, v.78, n.7, p.1303-1311, 2015.

MAIDEN, M. C. J. BYGRAVES, J. A., FEIL, E., MORELLI, G., RUSSELL, J. E., URWIN, R., SPRATT, B. G. Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 6, p. 3140–3145, 1998.

MALAEB, L. LE-CLECH, P.; VROUWENVELDER, J. S.; AYOUB, G.M. A.; SAIKALY, P. E. Do biological-based strategies hold promise to biofouling control in MBRs? **Water Research**, v. 47, n. 15, p. 5447-5463, 2013.

MANFREDA, G. PARISI, A., DE CESARE, A., MION, D., PIVA, S., & ZANONI, R. G. Typing of *Campylobacter* jejuni Isolated from Turkey by Genotypic Methods, Antimicrobial Susceptibility, and Virulence Gene Patterns: A Retrospective Study. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 13, n. 2, p. 93–100, 2016.

MANGEN, M-J. J.; BOUWKNEGT, M.; FRIESEMA, I. H. M.; HAAGSMA, J. A.; KORTBEEK, L. M.; TARIQ, L.; WILSON, M.; VAN PELT, W.; HAVELAAR, A. H.

Costof-illness and disease burden of food- related pathogens in the Netherlands, 2011. **International Journal of Food Microbiology**, v. 196, p.84-93, 2015.

MASDOR, N. A.; ALTINTAS, Z.; TOTHILL, I. E. Sensitive detection of *Campylobacter* jejuni using nanoparticles enhanced QCM sensor. **Biosensors and Bioelectronics,** v. 78, p. 328–336, 2016.

MASDOR, N. A.; ALTINTAS, Z.; TOTHILL, I. E. Surface Plasmon Resonance Immunosensor for the Detection of *Campylobacter* jejuni. **Chemosensors,** v. 5, n. 2, p. 16, 2017.

MATYAR F, GÜLNAZ O, GUZELDAG G, MERCIMEK HA, AKTURK S, ARKUT A, SUMENGEN M. Antibiotic and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from the Seyhan Dam Lake and Seyhan River in Turkey. **Annals of Microbiology**. 2014;64:1033 – 1040.

MAUKONEN, J.; MÄTTÖ, J.; WIRTANEN, G.; RAASKA, L.; MATTILA-SANDHOLM, T. Methodologies for the characterization of microbes in industrial environments: a review. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology,** v. 30, p. 327-356, 2003.

MELO, R. T., GRAZZIOTIN, A. L., JÚNIOR, E. C. V., PRADO, R. R., MENDONÇA, E. P., MONTEIRO, G. P., PERES, P. A. B. M.; ROSSI, D. A. Evolution of *Campylobacter* jejuni of poultry origin in Brazil. **Food Microbiology**, v. 82, p. 489–496, 2019.

MELO, R. T.; MENDONÇA, E. P.; MONTEIRO, G. P.; SIQUEIRA, M. C.; PEREIRA, C. B.; PERES, P. A. B. M.; FERNANDEZ, H.; ROSSI, D. A.. Intrinsic and extrinsic aspects on *Campylobacter jejuni* biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.1-15, 2017.

MENEZES, L. D. M. Caracterização microbiológica de ovos de consumo e de carcaças de frangos produzidos no Estado de Minas Gerais. Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. 2013.

MOE, K. K., MIMURA, J., OHNISHI, T., WAKE, T., YAMAZAKI, W., NAKAI, M., & MISAWA, N. The mode of biofilm formation on smooth surfaces by *Campylobacter* jejuni. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 72, n. 4, p. 411 416, 2010.

MONDS RD, O'TOOLE GA. The developmental model of microbial biofilms: Ten years of a paradigm up for review, **Trends in Microbiology**, v.17, p.73–87, 2009.

MOONS, P.; VAN HOUDT, R.; AERTSEN, A.; VANOIRBEEK, K.; ENGELBORGHS, Y.; MICHIELS, C. W. Role of quorum sensing and antimicrobial component production by *Serratia plymuthica* in formation of biofilms, including mixed biofilm with *Escherichia coli*., **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 7294-7300, 2006.

NEAL-MCKINNEY, J. M., LU, X., DUONG, T., LARSON, C. L., CALL, D. R., SHAH, D. H., & KONKEL, M. E. Production of Organic Acids by Probiotic Lactobacilli Can Be Used to Reduce Pathogen Load in Poultry. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, p. e43928,

2012.

NGUYEN, V. T., FEGAN, N., TURNER, M. S., DYKES, G. A.. Role of attachment to surfaces on the prevalence and survival of *Campylobacter* through food systems, **J. food protect**. v.75, p.195-206, 2012.

NIELSEN, K. M.; JOHNSEN, P. J.; BENSASSON, D.; DAFFONCHIO, D. Release and persistence of 653 extracellular DNA in the environment. **Environmental Biosafety Research**, v.6, p. 37-53, 2007.

NIELSEN, H. L.; EJLERTSEN, T.; ENGBERG, J.; NIELSEN, H. High incidence of *Campylobacter* concisus in gastroenteritis in North Jutland, Denmark: a population-based study. **Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 19, n. 5, p. 445–450, 2013.

NOCKER, A.; CAMPER, A. K. Remoção seletiva de DNA de células mortas de comunidades bacterianas mistas pelo uso de monoazida de etídio. **Appl. Environ. Microbiol**. v.72*,* p.1997-2004, 2006.

NORMA INTERNA. Departamento de inspeção de produtos de origem animal, da Secretaria de Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, nº 01, de 08 de março de 2017. Disponível em: <https://alimentusconsultoria.com.br/wp-content/uploads/2017/06/Norma_Interna.pdf>. Acesso em: 26 ago. 2021.

OH, J.-Y. KWON, Y. K., WEI, B., JANG, H. K., LIM, S. K., KIM, C. H., ... & KANG, M. S. Epidemiological relationships of *Campylobacter* jejuni strains isolated from humans and chickens in South Korea. **Journal of Microbiology,** v. 55, n. 1, p. 13–20, 2017.

OH, E.; ANDREWS, K. J.; JEON, B. Enhanced biofilm formation by ferrous and ferric iron througgh oxidative stress in *Campylobacter* jejuni. **Frontiers in Microbiology**, v.9, 2018.

OHSUMI, T.; TAKENAKA, S.; WAKAMATSU, R.; SAKAUE, Y.; NARISAWA, N.; et al. Residual structure of Streptococcus mutans biofilm following complete disinfection favors secondary bacterial adhesion and biofilm re-development. **PLoS ONE**, v.10, n.1, 2015.

OLIVEIRA, M. G., RIZZI, C., GALLI, V., LOPES, G. V., HAUBERT, L., DELLAGOSTIN, O. A., & DA SILVA, W. P. Presence of genes associated with adhesion, invasion, and toxin production in *Campylobacter* jejuni isolates and effect of temperature on their expression. **Canadian journal of microbiology**, v 65(4), p 253-260. 2019.

ON, Stephen LW. Taxonomy of *Campylobacter*, Arcobacter, Helicobacter and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, n. S6, p. 1S-15S, 2001.

OYARZABAL, O. A.; BATTIE, C. Immunological methods for the detection of *Campylobacter* spp.: current applications and potential use in biosensors. In: ABUELZEIN, E. (Ed.). **Trends in immunolabelled and related techniques.** [s.l.]: InTech, p.203 -226, 2012.

PARK, S. F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v.74, n.1, p.177-188, 2002.

PARK, S. H. HANNING, I., JARQUIN, R., MOORE, P., DONOGHUE, D. J., DONOGHUE, A. M., & RICKE, S. C. Multiplex PCR assay for the detection and quantification of *Campylobacter* spp., Escherichia coli O157:H7, and Salmonella serotypes in water samples. **FEMS Microbiology Letters**, v. 316, n. 1, p. 7–15, mar. 2011.

PARVEEN, N.; CORNELL, K. A. Methylthioadenosine/S-adenosylhomocysteine nucleosidase, a critical enzyme for bacterial metabolism. **Molecular Microbiology**, v. 79, n. 1, p. 7-20, 2011.

PERES, P. A. B. M. Perfil virulento, disseminação fenotípica e distribuição espacial e sazonal de *Campylobacter jejuni* isoladas de carcaças de frango no Brasil. 2020. 137f. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2020.

PINHEIRO, E. S. Divulgação técnica-Campilobacteriose intestinal. **Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal**, São Paulo, v.66, n.1/2, p.9-10, 2005.

PLUMMER, P. J. LuxS and quorum-sensing *in Campylobacter*, **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 2, n. 22, 2012.

POMETTO AL, DEMIRCI A. biofilms in the food environment. **New Jersey: John Wiley & Sons**; n. 2nd ed., p. 320, 2015.

PROIETTI, P. C.; GUELFI, G.; BELLUCCI, S.; LUCA, S.; GREGORIO, S.; PIERAMATI, C.; FRANCIOSINI, M. P. Beta-lactam resistance in *Campylobacter* coli and *Campylobacter* jejuni chicken isolates and the association between blaOXA-61 gene expression and the action of β-lactamase inhibitors, **Veterinary Microbiology**, v.241, 2020.

QUINN TC. Diversity of *Campylobacter* species and its impact on patients infected with human immunodeficiency virus. **Clin Infect Dis**. v24(6), p 1114-7. 1997.

RAHIMI, E.; AMERI, M. Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from raw chicken, turkey, quail, partridge, and ostrich meat in Iran. **Food Control,** v. 22, n. 8, p. 1165–1170, 2011.

RAJA, S. RAO, A., & BABU, N. Detection of Emerging Food Pathogens in Chicken Meat Using Multiplex Polymerase Chain Reaction. **Journal of Agricultural Science**, v. 8, n. 9, p. 217. 2016.

RECH, D., & VAZ, C. S. L. Técnicas laboratoriais para isolamento de *Campylobacter* em material avícola. In Embrapa Suínos e Aves-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Workshop de Diagnóstico Microbiológico de *Campylobacter* aplicado à avicultura. Concórdia. Anais Concórdia: **Embrapa Suínos e Aves**, 2012.

REIS, L. P. MENEZES, L. D. M., LIMA, G. K., SANTOS, E. L. D. S., DORNELES, E. M. S., ASSIS, D. C. S. D., ... & FIGUEIREDO, T. C. D. Detection of *Campylobacter* spp. in chilled and frozen broiler carcasses comparing immunoassay, PCR and real time PCR methods. **Ciência Rural,** v. 48, n. 2, 2018.

REIS, L. P. Utilização das metodologias imunoenzimática e reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção e caracterização de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango. Dissertação (mestrado em ciência animal)-Universidade Federal de Minas Gerais-Escola de Veterinária. Belo Horizonte-MG, p.62, 2015.

REESER, R. J. MEDLER, R. T.; BILLINGTON, S. J.; JOST, B. H.; JOENS, L. A Characterization of *Campylobacter jejuni* biofilms under defined growth conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 6, p. 1908 1913, 2007.

REUTER, M.; MALLETT, A.; PEARSON, B. M.; VAN VLIET, A. H. M. Biofilm formation by *Campylobacter jejuni* is increased under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 7, p. 2122-2128, 2010.

RICE, S. A.; WUERTZ, S.; KJELLEBERG, S. Next-generation studies of microbial biofilm communities. **Microbial Biotechnology**, v. 9, n. 5, p. 677-680, 2016.

RICKE, S. C.; FEYE, K. M., CHANEY, W. E., SHI, Z., PAVLIDIS, H., YANG, Y. Developments in Rapid Detection Methods for the Detection of Foodborne *Campylobacter* in the United States. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2019.

RODRIGUES, C. S. ARMENDARIS, P. M., DE SÁ, C. V. G. C., HADDAD, J. P. A., & DE MELO, C. B. Prevalence of *Campylobacter spp*. in Chicken Carcasses in Slaughterhouses from South of Brazil. **Current Microbiology,** v. 78, n. 6, p. 2242–2250, 2021.

ROILA, R.; RANUCCI, D.; VAIANI, A.; GALARINI, R.; SERVILI, M.; BRANCIARI, R. Antimicrobial and anti-biofilm activity of olive oil by-products against *Campylobacter* spp. isolated from chicken meat**. Acta Scientiarum Polonorum**, v. 18, n.1, p. 43-52, 2019.

ROSSI, D. A.; MENDONÇA, E. P.; MONTEIRO, G. P. Biofilms of Salmonella and *Campylobacter* in the poultry industry. In: MANAFI, M. **Poultry Science**, Intech Open, 2016. DOI: http://doi.org/10.5772/61986

SAHA, S. K., AND SANYAL, S. C. Recovery of injured *Campylobacter jejuni* after animal passage. **Appl. Environ. Microbiol,** v. 57, p. 3388–3389. 1991.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. Molecular cloning. **New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press**, 3ed., 2001.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R. M.; MAHON, B. E.; JONES, T. F.; GRIFFIN, P. M. An assessment of the human health impact of seven leading foodborne pathogens in the United States using disability adjusted life years. **Epidemiology and Infection**, v.143, p.2795-2804, 2015.

SANDBERG, M. NYGÅRD, K., MELDAL, H., VALLE, P. S., KRUSE, H., & SKJERVE, E.Incidence trend and risk factors for campylobacterinfections in humans in Norway. **BMC Public Health**, v. 6, n. 1, p. 179, 2006.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R. M.; ANGULO, F. J.; TAUXE, R. V.; WIDDOWSON, M. A.; ROY, S. L.; JONES, J. L.; GRIFFIN, P. M. Foodborne Illness Acquired in the United States - Major Pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 7, 2011.

SEBALD, M.; VERON, M. Teneur en bases de 1'ADN et classification des vibrions. **Ann. Inst. Pasteur**, v.105, p.897-910, 1963.

SERIO, A.; CHAVES-LÓPEZ, C.; MARTUSCELLI, M.; MAZZARRINO, G.; DI MATTIA, C.; PAPARELLA, A. Application of central composite design to evaluate the antilisterial activity of hydro-alcohol berry extract of Myrtus communis L. LWT-**Food Science and Technology**, v. 58, p. 116-123, 2014.

SIEMER, B. L.; NIELSEN, E. M.; ON, S. L. W. Identification and Molecular Epidemiology of *Campylobacter* coli Isolates from Human Gastroenteritis, Food, and Animal Sources by Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis and Penner Serotyping. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 71, n. 4, p. 1953–1958, abr. 2005.

SILVA, J., LEITE, D., & FERNANDES, M. *Campylobacter* spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. **Frontiers in Microbiology,** v. 2, 2011.

SOUSA, A. S.; OLIVEIRA, G. S.; ALVES, L. H. A pesquisa bibliográfica: princípios e fundamentos. **Cadernos da Fucamp**, v.20, n.43, p.64-83, 2021.

SREY, S.; JAHID, I. K.; HA, S. D. Biofilm formation in food industries: A food safety concern. **Food Control**, v. 31, n. 2, p. 572-585, 2013.

STEENACKERS H, HERMANS K, VANDERLEYDEN J, KEERSMAECKER SCJ. *Salmonella* biofilms: An overview on occurrence, structure, regulation and eradication. **Food Research International**, v.45, n. 2, p.502–531, 2012

STERN, N. J.; LINE, J. E.; CHEN, H. C. *Campylobacter*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington, **DC: APHA**, chapter 31, p.301-310, 2001.

STETSENKO, V. V.; EFIMOCHKINA, N. R.; PICHUGINA, T. V. Growth and Persistence of *Campylobacter jejuni* in Foodstuffs. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 166, n. 6, p. 759-765, 2019.

STEWART, P. S.; FRANKLIN, M. J. Physiological heterogeneity in biofilms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n. 3, p. 199–210, 2008.

STINTZI, Alain. Gene expression profile of Campylobacter jejuni in response to growth temperature variation. **Journal of bacteriology**, v. 185, n. 6, p. 2009–2016, 2003.

STRACHAN, N. J. C; ROTARIU, O.; SMITH-PALMER, A.; COWDEN, J. Identifying the seasonal origins of human campylobacteriosis. **Epidmiology and Infection**, v.141, ed.6, p.1267-1275, 2013.

SULAEMAN, S SULAEMAN, S., HERNOULD, M., SCHAUMANN, A., COQUET, L., BOLLA, J. M., DE, E.; TRESSE, O. Enhanced adhesion of Campylobacter jejuni to abiotic surfaces is mediated by membrane proteins in oxygen-enriched conditions. **Plos One**, v. 7, n. 9, p. e46402, 2012.

SUNG, K.; KHAN, S. Biofilm development by Campylobacter jejuni. In: POMETTO III, A. L.; DEMIRCI, A. Biofilms in the Food Environment, 2 ed. **John Wiley & Sons**, p. 29-50, 2015.

SVENSSON, S. L.; PRYJMA, M.; GAYNOR, E. C. Flagella-mediated adhesion and extracellular DNA release contribute to biofilm formation and stress tolerance of *Campylobacter jejuni*. **PLoS One**, v.9, n.8, 2014.

TABOADA, E. N. CLARK, C. G., SPROSTON, E. L., & CARRILLO, C. D. Current methods for molecular typing of Campylobacter species. **Journal of Microbiological Methods,** v. 95, n. 1, p. 24–31, out. 2013.

TAYLOR, E. V. HERMAN, K. M., AILES, E. C., FITZGERALD, C., YODER, J. S., MAHON, B. E., & TAUXE, R. V. Common source outbreaks of Campylobacter infection in the USA, 1997–2008. **Epidemiology and Infection,** v. 141, n. 5, p. 987–996, 2013.

TECHARUVICHIT, P.; TAKAHASHI, H.; KUDA, T.; MIYA, S.; KEERATIPIBUL, S. et al. Adaptation of Campylobacter jejuni to biocides used in the food industry affects biofilm structure, adhesion strength, and cross-resistance to clinical antimicrobial compounds, **Biofouling**, v. 32, p. 827–839, 2016.

TEH, A. H. T.; LEE, S. M.; DYKES, G. A. Identification of potential *Campylobacter jejuni* genes involved in biofilm formation by EZ-Tn5 transposome mutagenesis, **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, p. 182, 2017.

TEH, A. H. T.; LEE, S. M.; DYKES, G. A. Growth in the presence of specific antibiotics induces biofilm formation by a Campylobacter jejuni strain sensitive to them but not in resistant strains. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v.18, p.55-58, 2019.

TEJADA, T. S.; TIMM, C. D. Eficiência de diferentes protocolos para isolamento de *Campylobacter jejuni* de carne de frango. **Cienc. anim. bras.**, Goiânia, v.20, n.1-7, 2019.

USDA (United States Department of Agriculture). 2013. Food safety and inspection service: Campylobacter questions and answers. Available from: https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-

fact-sheets/foodborne-illness-and-disease/campylobacter-questions-and-answers/CT_Index/. Acesso em 24 de outubro de 2021.

VAN DER VEEN, S.; ABEE, T. Mixed species biofilms of Listeria monocytogenes and Lactobacillus plantarum show enhanced resistance to benzalkonium chloride and peracetic acid, **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, p. 421-431, 2011

VAN KONINGSVELD R, RICO R, GERSTENBLUTH I, SCHMITZ PI, ANG CW, MERKIES IS, JACOBS BC, HALABI Y, ENDTZ HP, VAN DER MECHÉ FG, VAN DOORN PA. Gastroenteritis-associated Guillain-Barré syndrome on the Caribbean island Curaçao. **Neurology.** v12, p1467-72, 2001.

VESTERLUND, S.; PALTTA, J.; OUWEHAND, A. C. Measurement of bacterial adhesion in vitro evaluation of different methods. **Journal of Microbiological Methods**, v.60, n.2, p.225-233, 2005.

VIVIAN, RC. The evaluation of biofilm formation and sensitivity to peracetic acid of Salmonella spp. isolated from poultry abattoir [dissertation]. São Paulo, Universidade Estadual Paulista, 2014.

VON ALTROCK, A., HAMEDY, A., MERLE, R., & WALDMANN, K. H. Campylobacter spp. – Prevalence on pig livers and antimicrobial susceptibility. **Preventive Veterinary Medicine,** v. 109, n. 1–2, p. 152–157, abr. 2013.

VUCIC, S.; KIERMAN, M. C.; CORNBLATH, D. R. Guillain-Barré syndrome: naupdate. **Journal Clinical Neuroscience**., v.6, p.733-741, 2009.

WAGENAAR, J. A.; FRENCH, N. P.; HAVELAAR, A. H. Preventing Campylobacter at the Source: Why Is It So Difficult? **Clinical Infectious Diseases,** v. 57, n. 11, p. 1600–1606, 2013.

WAGLE, B. R.; UPADHYAY, A.; UPADHYAY, I.; SHRESTHA, S.; ARSI, K. Trans-Cinnamaldehyde, Eugenol and Carvacrol Reduce Campylobacter jejuni Biofilms and Modulate Expression of Select Genes and Proteins. **Frontiers in Microbiology**, v.10, 2019.

WALLACE, R. L. BULACH, D. M., JENNISON, A. V., VALCANIS, M., MCLURE, A., SMITH, J. J., GLASS, K. Molecular characterization of Campylobacter spp. recovered from beef, chicken, lamb and pork products at retail in Australia. **PLOS ONE***, v.* 15, n. 7, p. e0236889, 30 jul. 2020.

WHO et al. Prevention of foodborne disease: Five keys to safer food. **World Health Organization**. int. Retrieved on, p. 12-10, 2010.

WINN, J. R.; W.; ALLEN, S.; JANDA, W.; KONEMAN, E.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; WOODS, G. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. **Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins**, p.1535, 2006.

WATNICK P, KOLTER R. Minireview: Biofilm, city of microbes, **Journal of Bacteriology** v.182,n. 10, p.2675–2679,2000.

YANG, C. JIANG, Y., HUANG, K., ZHU, C., & YIN, Y. Application of real-time PCR for quantitative detection of Campylobacter jejuni in poultry, milk and environmental water. **FEMS Immunology & Medical Microbiology,** v. 38, n. 3, p. 265–271, 2003.

YANG, H.; LI, Y.; JOHNSON, M. G. Survival and Death of Salmonella Typhimurium and Campylobacter jejuni in Processing Water and on Chicken Skin during Poultry Scalding and Chilling. **Journal of Food Protection,** v. 64, n. 6, p. 770–776, 2001.

YOUNG, K.; DAVIS, L.; DIRITA, V. Campylobacter jejuni: molecular biology and pathogenesis. **Nat Rev Microbiol**, v 5, p 665–679, 2007.

ZHANG, Q. Campylobacteriosis. In: SAIF, Y. M (Ed). **Diseases of Poultry**, 12ed. Iowa: Brackwell Publishing, p.670-690, 2008.

Zhang, Q., & Sahin, O. Campylobacteriosis. **Diseases of poultry**, 754-769. 2020.

ZHAO, S. TYSON, G. H., CHEN, Y., LI, C., MUKHERJEE, S., YOUNG, S., MCDERMOTT, P. F. Whole-Genome Sequencing Analysis Accurately Predicts Antimicrobial Resistance Phenotypes in Campylobacter spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 2, p. 459–466, 2016.

ZILBAUER, M. DORREL, N. WREN, B. W. BAJAJ-ELLIOTT, M. *Campylobacter jejuni* mediated disease pathogenesis: na update. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.,** v. 102, n. 2, p. 123-129, 2008.

SOBRE OS AUTORES

FERNANDA APARECIDA LONGATO DOS SANTOS - Orcid iD: https://orcid.org/0000-0002-7378-1229. Lattes: http://lattes.cnpq.br/4056573671240473. Mestranda em Ciências Veterinárias (Investigação Etiológica) pela Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Uberlândia (2013-2019). Graduanda em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário do Triângulo (UNITRI). Tem interesse na área do desenvolvimento de nanoformulações com o uso de produtos naturais.

GABRIELA RIBEIRO DA SILVA - Orcid iD: https://orcid.org/0000-0002-6633-3778. Lattes: http://lattes.cnpq.br/0844813510526733. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia (2015). Residência em Medicina Veterinária Preventiva pela Universidade Federal de Uberlândia (2020), pós-graduada em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais pelo Instituto Qualittas (2018), mestranda em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Uberlândia (2021-2023). Tem experiência na área de Microbiologia Veterinária.

LETÍCIA SILVA SANTOS - Orcid ID: https://orcid.org/0000-0001-9955-0966. Lattes: http://lattes.cnpq.br/6165224179793718. Discente do Programa de Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária na área de Medicina Veterinária Preventiva pela Universidade Federal de Uberlândia (2020-2022), Pós-graduanda em Avicultura de Corte e Postura pela Unyleya (2021-2022), Pós-graduada em Biologia Celular e Molecular pela Faculdade de Fleming (2021) e Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade de Uberaba (2019).

MICAELA GUIDOTTI TAKEUCHI - Orcid iD: https://orcid.org/0000-0002-7069-9238. Lattes: http://lattes.cnpq.br/4324359443468669. Doutoranda em Ciências Veterinárias (Investigação Etiológica) - Universidade Federal de Uberlândia. Mestre em Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Goiás (2011-2013). Especialista em Tecnologia e Qualidade na Produção de alimentos pela Universidade Federal de Alfenas (2020-2022) Desenvolve pesquisas na área de segurança alimentar e saúde única.

SIMONE SOMMERFELD - Orcid ID: https://orcid.org/0000-0003-1882-4158. Lattes: http://lattes.cnpq.br/4164989520908476. Médica Veterinária pela Universidade Federal de Minas Gerais (2013). Mestre em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Uberlândia (2021). Servidora pública federal, lotada na Rede de Biotério de Roedores da Universidade Federal de Uberlândia (Desde 2017).

THAIS FERNANDA MARTINS DOS REIS - Orcid iD: https://orcid.org/0000-0002-9516-3640. Lattes: http://lattes.cnpq.br/7054100140172046. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Presidente Antônio Carlos (2015). Residência em Medicina Veterinária Preventiva pela Universidade Federal de Uberlândia (2017), mestrado em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Uberlândia (2019), doutoranda em Ciências veterinárias pela Universidade Federal de Uberlândia (2020-2024). Tem experiência nas áreas de Microbiologia Veterinária com ênfase na relação patógeno/hospedeiro, e em pesquisas voltadas ao sequencialmente genético de novos patógenos.